

V SEMINARIO DE QUIMICA MARINA



SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CADIZ

551.464
SEM

V SEMINARIO DE QUIMICA MARINA

(Cádiz, 23 - 24 enero 1990)

Edición coordinada por:
ABELARDO GÓMEZ PARRA
Instituto Ciencias Marinas de Andalucía
JOSÉ LÓPEZ RUIZ
EUIT Navales de Cádiz



SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ
1991

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ



3740714017

Copyright: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz.
I. S. S. N.: 0214 - 9818
Depósito Legal: CA: 859/89
Imprime: Imprenta Repeto - Cádiz.

INDICE

	<u>Páginas</u>
PRESENTACION	9
CONFERENCIA 1:	11
Efectos bioquímicos de la contaminación por metales pesados. <i>J. Blasco Moreno</i>	13
CONFERENCIA 2:	45
El ciclo del carbono en los océanos. <i>G. Cauwet</i>	47
COMUNICACIONES:	
Algunos aspectos metodológicos en la medida de los flujos bentónicos a través de la interfase agua-sedimento. <i>A. Gómez-Parra y J. M. Forja</i>	61
Variación anual de los aportes de silicato disuelto a la Ría de Vigo. <i>R. Prego y F. Fraga</i>	81
Perfiles verticales de alcalinidad en el agua intersticial de sedimentos de la Bahía de Cádiz. <i>J. Forja, M. Arjonilla y A. Gómez-Parra</i>	93
Influencia del material particulado en la determinación de la alcalinidad del agua del mar. <i>G. Rosón y Fiz F. Pérez</i>	107
Efecto de la materia en suspensión en el análisis de nutrientes con un analizador de flujo continuo de tercera generación. <i>M. Arjonilla, J. M. Forja y A. Gómez-Parra</i>	113
Determinación potenciométrica de calcio en agua de mar. <i>G. Rosón y Fiz F. Pérez</i>	121
Eliminación de amonio excretado por alevines de dorada (<i>Sparus aurata</i>) por medio de zeolitas. <i>J. López Ruiz y A. Vidaurreta Campillo</i>	129
Lecho de zeolita para la eliminación de amonio en agua de mar. <i>J. López Ruiz</i>	137
Producción de amonio en la descomposición de piensos para peces: acción de las zeolitas. <i>J. López Ruiz y J. Pérez Sánchez</i>	143
Resistencia a la corrosión marina de electrodepositos de níquel. <i>E. Julve</i>	151

Hidrocarburos derivados del petróleo en especies de peces de Canarias. Estudio preliminar. S. Quintero, C. Díaz y F. J. García Montelongo	159
Variación estacional de la composición química de la sardina (<i>Sardina pilchardus</i> Walb.) en la Bahía de Cádiz. M. J. Feliú y R. Establier	171
Caracterización de la sardina mediterránea (<i>Sardina pilchardus</i>) y su evolución a lo largo del año. J. A. Serra Belenguer e I. Escribano Roberto	183
Histoquímica de lípidos en ovario e hígado de <i>Halobatrachus didactylus</i> . (Schneider, 1801), de la Bahía de Cádiz. M. L. González Canales, M. Alvarez, F.J. Fernández Trujillo y M.C. Sarasquete	193
Localización del Glucógeno en el Manto del Mejillón, <i>Mytilus galloprovincialis</i> . M.C. Sarasquete, S. Gimeno y M.L. González de Canales	199
Metales pesados en sedimentos del litoral de Guipúzcoa. M.J. Sola, B. Alonso, A. Ramos, L. Cantón y I. Legórburu.	205
Determinación de hierro y vanadio en agua de mar. J. A. Pérez Bustamante, R. Rodríguez y M. García-Vargas	215
Demostración histoquímica de lisosomas y lipofuscinas en <i>Mytilus galloprovincialis</i> y <i>Ruditapes phillipinarum</i> expuestos a metales pesados M. C. Sarasquete, S. Gimeno y M. L. González de Canales	223
Balance de materia contaminante a la Bahía de Algeciras. Clifford C. Wait, M. Suárez Castaño y J.A. Muñoz Leiva	229
Composición de los aglomerados en playas de la Isla de Tenerife. Estudio preliminar. J.E. Conde González, C. Díaz Romero y F.J. García Montelongo	243
Distribución de microcontaminantes en sedimentos superficiales de la Bahía de Zarautz (Guipúzcoa). A. Ramos, B. Alonso, M.J. Sola, L. Cantón y I. Legórburu	255
Reología de formulaciones detergentes étripolifosfatos o zeolitas?. A.F. Guerrero, J.M. Rodríguez, C. Gallegos y V. Flores	267
Influencia de la concentración y de la aireación en la degradación de tensioactivo. D. Sales y J. M ^a Quiroga	273

P R E S E N T A C I O N

Esta inauguración del V Seminario de Química Marina es para todos los que venimos organizando, y para los que participan regularmente en ellos, motivo de satisfacción y orgullo. La celebración de cinco Seminarios ya, evidencia la justificación de la necesidad de su realización. Hemos conseguido una mayoría de edad que propicia, sin duda, su continuidad y da razón a los que con ilusión emprendimos la tarea de organizar el primero, cuando al tiempo de estar convencidos de su necesidad, sentimos la preocupación de que ello no fuese en realidad más que un espejismo.

Dado el éxito que auguro para este V Seminario con participación tan importante, podemos estar seguros de la celebración del VI y espero que así sucesivamente, con la intención de consolidar estas reuniones dentro de la superación y exigencias que marcan la obtención del mayor prestigio posible.

Por otra parte, este Seminario que nos ocupa hoy, se encuentra apoyado y enmarcado dentro del acontecimiento que significa para Cádiz y para todos nosotros, la iniciación de los estudios de Ciencias del Mar que con audacia y sentido de su propia vitalidad, ha hecho nacer nuestra Universidad. Frente a los que temen por la andadura profesional de los futuros licenciados en Ciencias del Mar —temores fundados, por cierto— está la ilusión de fecundar la idea primaria de la existencia de Cádiz dentro del mar, adecuando esta existencia a la necesidad de la técnica moderna. Cuando tantas veces desde aquí hemos clamado por la instauración en Cádiz de estudios específicos de Oceanografía Química o de Química Marina, este alumbramiento de la nueva Facultad de Ciencias del Mar incubada en una Facultad de Químicas en perfecto entendimiento con el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, nos llena de esperanza e ilusión.

Y hablando ahora en otro terreno, es obligado dar las gracias a todos los Organismos que nos han ayudado a la celebración de este nuevo Seminario: Dirección General de Universidades de la Junta de Andalucía, Vicerrectorados de Investigación, Extensión Universitaria y Alumnado de la Universidad de Cádiz, a la Asociación Nacional de Químicos de España, a las Facultades de Ciencias y de Ciencias del Mar, al Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, a la EUIT Naval, a su Departamento de Construcciones Navales, a la Caja de Ahorros de Cádiz, al Casino Gaditano, y a este Centro de la UNED que nos acoge hoy con la complacencia desinteresada de siempre.

Gracias especiales a las personas que han colaborado con el Comité Organizador y a las de Secretaría de este Centro, que como siempre, han dado una lección de amabilidad y de eficacia. También a los participantes y científicos que presentan trabajos de investigación, que son en definitiva los

que consolidan el acierto de organizar estos Seminarios. Sin estos investigadores no tendrían razón de ser, y por ello hemos de manifestar públicamente la importancia de su participación, especialmente los que se desplazan de puntos lejanos de nuestra geografía: Canarias, Galicia, Vascongadas, Asturias, Barcelona, etc.

Muchas gracias concretas a los Conferenciantes, Dr. Blasco Moreno, del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía y al Dr. Cauwet, del Laboratorio de Sedimentología y Geoquímica Marina de la Universidad de Perpignan, destacándose en este caso el esfuerzo que realiza atendiendo a nuestra petición para desplazarse desde dicha localidad francesa. Que Profesor de renombrada capacidad investigadora tenga la deferencia de venir hasta nosotros para pronunciar una Conferencia, es algo que merece resaltarse por el prestigio que su presencia depara a este Seminario. Muchas gracias Profesor Cauwet y el deseo de que para compensar siquiera sea minimamente su esfuerzo, le resulte grata la estancia entre nosotros.

Antes de finalizar quiero rendir desde aquí un recuerdo a la figura del Profesor Establier, ex-Director del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, eficaz y leal colaborador en la organización de los Seminarios y conferenciante en algunos de ellos, que se encuentra alejado hoy de nosotros, sufriendo desde hace meses una paralización vital casi completa. Creo que se merece la justicia de que desde la alegría de este Acto inaugural, nos detengamos un momento para solidarizarnos con su dolor y con el de su familia y amigos, pidiendo a Dios que le atienda con la misericordia y esperanza que sólo El nos puede proporcionar.

Muchas gracias, finalmente, a todos los aquí presentes por dar realce y brillantez al acto que celebramos y que quien os habla consiga salud y suerte para volver a sentir dentro de dos años, la satisfacción de estar de nuevo con ustedes.

José López Ruiz.

CONFERENCIA 1

EFFECTOS BIOQUIMICOS DE LA CONTAMINACION POR METALES PESADOS

J. Blasco.

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.).

La contaminación por metales pesados del medio marino y su impacto sobre los organismos y sobre el hombre constituye un tema de investigación de indudable actualidad. A este respecto cabe señalar que en nuestro país el Plan Nacional de Investigación considera como línea prioritaria la investigación sobre Medio Ambiente, al igual que sucede con los Planes de Investigación de la C.E.E. En el documento COM 88/647 se recogen los puntos claves a ser investigados en el campo del Medio Ambiente. Se trata de problemas transnacionales, que aparecen recogidos en tres grandes grupos interdependientes (tabla 1).

TABLA 1

PROBLEMAS CLAVES DE INVESTIGACION IDENTIFICADAS EN EL CAMPO DEL MEDIO AMBIENTE.

a) Entendimiento de los fenómenos básicos que rigen los procesos ambientales.

- Mecanismos del clima.
- Química atmosférica (transformación de los contaminantes y agujero de ozono).
- Fisiología de los organismos bajo condiciones ambientales límites (contaminación, sequía, etc.).

- Funcionamiento, estabilidad y vulnerabilidad de los ecosistemas.
- Metabolismo de los efectos de las sustancias xenobióticas en el hombre, animales y plantas.
- Interacciones entre la atmósfera, el suelo y el agua.
- Química y biología del suelo bajo la influencia de la contaminación y otras presiones (prácticas agrícolas), vulnerabilidad a la erosión.
- Mecanismos básicos de los sucesos sísmicos y volcánicos.
- Estudio de los efectos de los contaminantes sobre los materiales.
- Investigación de la prevención de los accidentes debidos a las actividades industriales de alto riesgo.

b) Detección e interpretación de los cambios ambientales.

- Mejora de los métodos de análisis de los componentes de la matriz ambiental.
- Observación de la tierra por técnicas de sensores remotos.
- Elaboración de métodos para el almacenamiento y tratamiento de los datos del medio ambiente y para apoyar la modelización.
- Recolección, compilación y valoración de los datos de calidad ambiental.
- Descripción y evaluación de los síntomas de daños en los organismos.
- Estudios epidemiológicos de las poblaciones humanas expuestas a la contaminación.
- Estudio de la deteriorización del suelo y la erosión.
- Registro de indicadores de cambio climático.

c) Prevención de los daños ambientales.

- Desarrollo de tecnologías limpias para reducir la contaminación y para el reciclado de los desechos.
- Desarrollo de métodos ecológicos para el manejo de los ecosistemas y de los recursos renovables.
- Rehabilitación de los ecosistemas degradados o transformados.
- Desarrollo de tecnologías de seguridad (industrias químicas).
- Investigaciones sobre posibilidades de predicción y minimización de las consecuencias de los desastres de origen natural y humano.
- Diseño de métodos y materiales para la protección y restauración del legado cultural.

En el Consejo de las Comunidades Europeas celebrado en el año 1986 se aprobó el 4º Programa I + D de Medio Ambiente (1986-1990) dotado con 70 millones de ECUS. En el período cuatrienal 1989-1992 y considerándolo una prórroga del anterior se han aprobado dos nuevos programas de Investigación: el STEP, sobre Ciencia y Tecnología de Medio Ambiente y el EPOCH sobre Climatología y Riesgos Naturales, la dotación de los mismos ha sido de 115 millones de ECUS. Parece evidente de los datos existentes, por tanto, que la investigación sobre Medio Ambiente provoca

una gran atención en la sociedad y en los distintos gobiernos y que se está realizando un fuerte apoyo a la investigación en este punto, mediante la financiación de proyectos que aborden aspectos relacionados con el mismo.

Desde hace muchos años se le ha atribuido a la contaminación por metales un efecto perjudicial para el medio acuático. En el año 1925 ya aparece documentado la contaminación de los ríos Ystwyth y Rheidol en el oeste de Gales (Reino Unido) debido al aporte de metales, como consecuencia de las aguas de lavado de minerales, lo que produjo la práctica desaparición de la vida en los mismos. En estos dos ríos se realizaba una importante pesquería de salmónidos, pero al inicio del siglo XIX, la introducción de un proceso de molienda fina de mineral produjo el vertido de material finamente triturado al río, que condujo a que en el año 1919 la presencia de peces sólo fuera un recuerdo, y que sólo se registrase la presencia de un número limitado de comunidades de invertebrados.

El estudio sobre la cuantificación y el efecto tóxico de los metales pesados se incrementó de manera sensible, a partir de la década de los 50 como consecuencia de un caso de contaminación muy citado en la bibliografía, el de la Bahía de Minamata en Japón. Se trataba de un problema de contaminación por Hg; otro caso de contaminación por mercurio ocurrió nuevamente en Japón, en Niigata, en el año 1964 que vino a confirmar la hipótesis de que ese metal era el responsable de los desequilibrios para la salud que se conocía como la enfermedad de Minamata. El cadmio también ha sido la causa de algunos problemas importantes para la salud, como en los otros dos casos anteriores se produjo en Japón en la ribera del río Jintsu y la enfermedad asociada con esta contaminación se conoce como enfermedad de itai-itai. Otros metales sobre los que ha existido una legislación limitativa acerca de su concentración en el medio acuático han sido el arsénico y el plomo, debido a que tradicionalmente se conocían enfermedades profesionales en aquellas industrias en que se empleaban estos metales.

La presencia de metales en el ecosistema marino no representa «per se» un problema de contaminación asociado, ya que son constituyentes naturales del mismo. La concentración de los mismos en agua de mar es, en general, muy baja del orden de $\mu\text{g/l}$. La presencia de estos metales se debe a fenómenos atmosféricos e hidrológicos de erosión y de transporte, así como a la actividad volcánica submarina.

La concentración de metales a «nivel» de trazas y en particular de metales pesados (Zn, Cu, Cd, Hg, Cr, Ag, Pb, Co,...) en el agua de mar se ha visto incrementada de manera notable como consecuencia del desarrollo de la sociedad industrial, tanto es así que se considera a los mismos como los mayores contaminantes del ecosistema marino (Bryan, 1976). En la tabla 2 se puede observar como la movilización de metales a los océanos es muy superior a la que se produce por los procesos de erosión, así el Zn y el Cu se movilizan a una velocidad 10 veces superior a la que cabría esperar por procesos naturales. Otros metales como el mercurio y la plata son introducidos a una velocidad menor, pero en cualquier caso su velocidad es superior a la que tiene lugar por procesos naturales. Las principales fuentes y especies iónicas de los metales tóxicos se recogen en la tabla 3.

TABLA 2

Movilización de los metales en los océanos.

Elemento	Velocidad geológica ^a (10 ³ Toneladas m./año)	Velocidad inducida por el hombre 10 ³ Toneladas m./año)	Total en los océanos ^c (10 ⁶ Toneladas métricas)
Hierro	25000	319000 ^a	395000 ^b
Manganeso	440	1600	1850
Cobre	375	4460	6000
Zinc	370	3930	5320
Níquel	300	358	481
Plomo	180	2330	3200
Molibdeno	13	57	74
Plata	5	7	9
Mercurio	3	7	10.5
Estaño	1.5	166	227
Antimonio	1.3	40	65
Cadmio	—	—	17
			68

^aEstudio de los problemas ambientales críticos, MIT, 1970.^bUS Bureau of Mines, Anuario de Minerales para 1970.^cDe Bryan (1976); vol. ocean.: 1.37×10^{21} litros.

TABLA 3

Fuentes y especies iónicas de metales tóxicos (O'Connor, 1974).

Fuente	Principal forma iónica	Fuentes	
		Mineral	Antropogénica
As	AsO_2^- (AsIII) arsenito AsO_4^{3-} (As V) arsenato	FeAsS	Herbicidas
		As_2S_3	Fertilizantes
		AsO_2	Detergentes
		FeAs_2	
		As_4S_4	
Cd	Cd^{2+}	CdCO_3	Electrodeposición
		CdS	Fotografía
		CdO	
Cr	Cr^{3+} (Cr III) CrO_4^{2-} (CrVI) cromato $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (Cr VI) dicromato		Cromados
		$\text{Fe}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$	Ind. colorantes
			Tinta
Pb	Pb^{2+}	PbO, PbS	Combustibles
		PbCO_3	
		PbSO_4	
Hg	Hg_2^{2+} mercurioso Hg^{2+} , mercurico	Hg_2Cl_2	Fabric. cloro
		HgS, HgO	Fungic., electrón. pesticidas
Se	SeO_3^{2-} (SeIV), selenito SeO_4^{2-} (SeVI), selenato	constituy. trazas	Fundición de cobre
		de yacim. de sulfuros	
Ag	Ag^+	$\text{Ag}_2\text{O}, \text{AgCl}$	Electrodep. aliment. y procesamiento bebid.
		AgS, AgF	

Las zonas litorales y estuáricas están sujetas en mayor medida a los procesos de polución que las aguas oceánicas, debido a su proximidad a la tierra y por tanto a los puntos de vertidos industriales o urbanos. Por otro lado, en estos lugares se realiza, en general, un elevado aprovechamiento de sus recursos naturales, así como para actividades recreativas, lo que ha dado lugar a una sensibilización especial por parte de la opinión pública en relación a los temas de contaminación y de preservación del medio ambiente.

La distribución de los metales entre los diversos componentes del ecosistema marino (agua, sedimento, organismos vegetales y animales) se halla regulada por fenómenos hidrodinámicos de dilución y difusión, así como por fenómenos de adsorción y precipitación, junto con procesos realizados por los organismos marinos de absorción y eliminación (Moore, 1981).

Dentro del grupo de los metales se puede realizar una división entre los que se denominan esenciales y no esenciales, los pertenecientes al primer grupo son necesarios para la vida de los organismos; éstos se pueden hallar en una proporción importante en los tejidos (Na, K, Ca,...) o bien sólo en cantidades de trazas (Zn, Cu, Co,...). El papel que pueden desempeñar los metales para el correcto desarrollo y funcionamiento del organismo pueden ser diversos: realizando un papel fundamental en el metabolismo y el crecimiento de los organismos, o bien forman parte de macromoléculas (proteicas, enzimáticas), o bien son cofactores de reacciones enzimáticas. Pese a todo ello, ha sido señalado, ampliamente, en la bibliografía que cuando la concentración del elemento supera el nivel «fisiológico» (Viarengo et al., 1988; Engel et al., 1981) se produce un efecto tóxico (Fig. 1). A los metales que no se les atribuye ningún papel biológico se les considera tóxicos. La tendencia que se observa en las investigaciones es a reducir este segundo grupo ya que se siguen descubriendo funciones biológicas que necesitan la presencia de determinados metales aunque en cantidades mínimas.

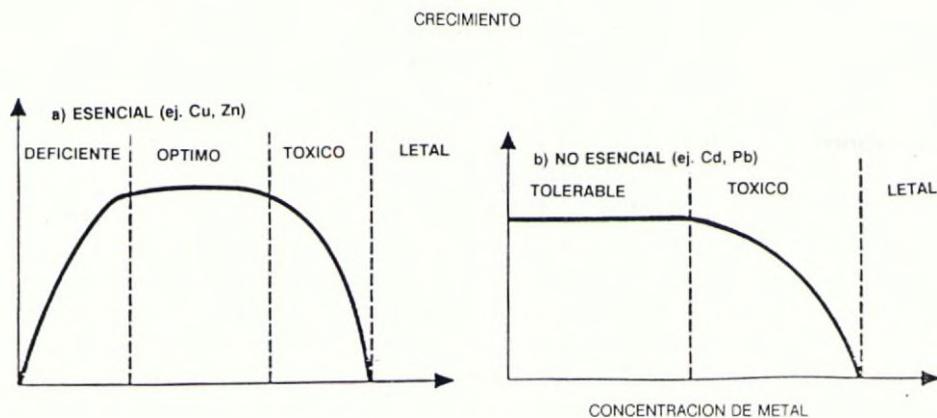


Fig. 1.— Efecto de la deficiencia y exceso de metales trazas sobre el crecimiento.

Dentro de la denominación general de metales (esenciales y no esenciales) existe un grupo de ellos llamados metales pesados, que son aquellos con un número atómico comprendido entre 22 y 92 en todos los grupos de los periodos III a VII de la tabla periódica; en cualquier caso no hay un criterio satisfactorio que los unifique e identifique (Waldichuk, 1974). Estos se encuentran en los tejidos en forma iónica, libres o unidos a diferentes clases de ligandos. Los metales se pueden unir a grupos sulfhidrilos, hidroxilo, carboxilo e imidazol y residuos aminos de proteínas, péptidos y aminoácidos y a grupos $-NH$ y $C=O$ de cadenas proteicas; también se pueden unir a los átomos de N y O de las bases heterocíclicas, a los hidroxilos de (oxiribosa) de los nucleósidos y también a los grupos fosfatos de nucleótidos y ácidos nucleicos. En cualquier caso, los metales tienen una preferencia pronunciada por aquellos grupos con átomos de S y tienden, en consecuencia, a formar complejos más estables con residuos sulfhidrilos de aminoácidos y polipéptidos. La diferencia entre los distintos elementos (número atómico y electronegatividad) es responsable de diferencias muy sensibles en la afinidad por los residuos $-SH$ de las proteínas entre los distintos elementos (hasta del orden de 10.000 veces).

Los metales pesados se pueden encontrar en el agua de mar en distintas formas, dependiendo del equilibrio existente entre las especies iónicas y los ligandos orgánicos e inorgánicos presentes. La forma en que se encuentra un metal en el agua se halla afectada por distintas variables ambientales como son: temperatura, pH, salinidad, oxígeno disuelto, potencial redox, presencia de materia orgánica disuelta y particulada, luz; así como por la posible interacción con otros metales (Engel, 1981; Bryan, 1976).

La especiación química de los metales pesados es de importancia fundamental, ya que de hecho la biodisponibilidad y la toxicidad del metal depende de su forma química. Ortner et. al., (1983) han señalado p.e. que el Cu, Zn y Mn son menos tóxicos para el fitoplancton cuando se hallan secuestrados por ácidos húmicos. Es bien conocido también el caso del mercurio en donde las especies alquílicas son más tóxicas que las formas inorgánicas (Underwood, 1974). Pese a que se trata de un problema de extrema complejidad, hay evidencias importantes acerca de que la toxicidad del metal puede ser función de la actividad del catión libre en agua de mar (Viarengo, 1989).

Incorporación del metal.

Un primer paso en el proceso de intoxicación de metales pesados lo constituye la incorporación del mismo. Los organismos marinos son capaces de acumular en sus tejidos cantidades importantes de metales. Los moluscos, p.e., han sido empleados ampliamente como indicadores de contaminación por metales, y de hecho hay una amplia literatura sobre la concentración de éstos en una gran variedad de especies de diferentes procedencias (Bryan, 1976, 1979; Phillips, 1980; Mance, 1987). El objetivo que se persigue en estos trabajos muchas veces no aparece indicado de manera clara en los mismos, en cualquier caso lo que parecen intentar demostrar es que la concentración de un metal en un tejido es indicador de la biodisponibilidad del mismo en el medio. Para que esto sea cierto es necesario que la cantidad que se acumula sea proporcional

directamente a la velocidad de incorporación a través del sistema epitelial. En la tabla 4 se pueden observar algunos datos para distintas especies de peces, moluscos y crustáceos. No obstante, desafortunadamente un gran número de variables como: edad, peso, talla, sexo, lugar de muestreo, temperatura y dieta también afectan al contenido del metal acumulado y es difícil interpretar estos datos sólo en términos de mecanismo de incorporación (Phillips, 1980).

TABLA 4

Concentración de Hg en moluscos, peces y crustáceos del Golfo de Cádiz
(Establier, 1977).

Especie	Talla (cm)	Conc. de Hg (ppm)		
		min.	máx.	medio
PECES				
<i>Sardina pilchardus</i>	14.0–16.5	0.05	0.07	0.06
<i>Engraulis encrasicolus</i>	11.0–12.5	0.06	0.06	0.06
<i>Thunnus thynnus</i>	200.0–271.0	0.46	0.91	0.68
MOLUSCOS				
<i>Crassostrea angulata</i>	5.5–11.0	0.07	0.23	0.12
<i>Venus gallina</i>	2.4–2.8	0.04	0.26	0.11
<i>Ruditapes decussatus</i>	2.7–3.5	0.05	0.06	0.06
CRUSTACEOS				
<i>Penaeus kerathurus</i>	12.5–18.0	0.09	0.26	0.16
<i>Squilla mantis</i>	11.5–12.5	0.12	0.12	0.12

El proceso molecular de incorporación del metal puede variar entre distintos grupos de organismos, así para peces se ha encontrado que Hg, Cu y Zn son incorporados mediante un sistema activo llevado a cabo por transportadores (Bouqueneau et al., cit Viarengo 1989, Cousisns, 1985); más aún el Hg y el Cd son capaces de alterar el balance iónico y modificar, en consecuencia, la permeabilidad de la membrana celular. Ellos pueden afectar al movimiento pasivo de iones así como al transporte activo, mediante un efecto directo sobre la actividad Na, K-ATPasa (inhibiéndola) o reduciendo la disponibilidad de ATP (Bouqueneau y Gilles, 1979). En el caso de moluscos se trata fundamentalmente de un proceso pasivo, directamente proporcional a la actividad del metal en el agua. En cualquier caso la posibilidad de transportadores activos de membrana no se excluye, Gutknecht (1983) y George y Viarengo (1985) observaron que el flujo de Cd a través de la membrana branquial del mejillón era 100 veces superior que a través de una membrana lipídica artificial, de ahí que la hipótesis acerca de la existencia de transportadores activos de membrana sea plausible (Carpené

y George, 1981). La presencia de ligandos con alta afinidad por el Cd en el interior de la célula, como el glutatión (GSH), de proteínas solubles ricas en grupos sulfhidrilos y de las metalotioneínas provocaría la eliminación de átomos de Cd de la capa interior de la membrana lipídica lo que reduciría la cantidad de cationes libres y mantendría un gradiente con el medio externo.

En cualquier caso, las interpretaciones de los mecanismos de incorporación de un metal en concreto no son válidos, de manera general, para los restantes, p.e. en el caso del Hg la posibilidad de este elemento de formar un complejo lipofílico planar le permite cruzar la membrana plasmática lipofílica más fácilmente a través de un proceso pasivo de difusión. (Gutknecht, 1981). Es necesario señalar que aunque la forma de incorporación de la forma soluble de los metales pesados es por un proceso de transporte pasivo como ha sido señalado anteriormente, varias estrategias se puedan dar simultáneamente y el papel cuantitativo que desempeña cada una de ellas puede depender de la composición química del agua de mar en relación al metal y del organismo que se considere.

En la figura 2 (Viarengo 1989) se representa los mecanismos posibles de incorporación del metal en las células de invertebrados marinos. Entre éstos se cita la endocitosis como un mecanismo de transporte activo para material particulado. El proceso consiste en la incorporación de material desde la superficie celular mediante un hundimiento de la membrana plasmática y la formación de una vesícula. Con frecuencia la vesícula endocitótica se funde con un lisosoma lo que da lugar a la formación de un lisosoma secundario. Bevelander y Nakahara (1966) han demostrado actividad lisosomal en las células del manto de la almeja *Macrocallista maculata* lo que ponía de manifiesto para estos autores la incorporación de material particulado. No es de extrañar, por tanto, la presencia de determinados metales como Zn, Fe, Pb y Hg asociados a lisosomas en moluscos (Lowe y Moore, 1979; Fowler et al., 1975).

Los procesos de endocitosis epitelial se hallan implicados principalmente en los procesos de incorporación de metales insolubles. El Fe p.e. que se incorpora, casi exclusivamente, a partir de material particulado, en el *M. edulis* se realiza en determinadas regiones de las branquias. Las vesículas celulares conteniendo Fe se encuentran en la región apical de las células epiteliales (George et. al., 1976).

Las células digestivas son también capaces de fagocitar o pinocitar material particulado. Los experimentos en donde se han empleado marcadores a fin de seguir el proceso de ingestión han demostrado que dependiendo del tamaño de las partículas se podían dar dos procesos, si el metal se encontraba en un agregado de dimensiones macromoleculares, como es el caso del Fe floculado, ThO_2 y TiO_2 se incorporaba por fagocitosis, mientras que si se hallaba en forma micromolecular, p.e. en un quelato de Fe, Pb, Zn, Cu y Cd entraba probablemente a través de pinocitosis por las células epiteliales.

La importancia que las distintas rutas posibles (solución, alimento, sedimento) pueden tener en la incorporación de un metal depende de las estrategias de alimentación y de los hábitos de vida del animal que se considere. Diversos autores han realizado ensayos para evaluar la importancia de las rutas de introducción del metal, así Pen-

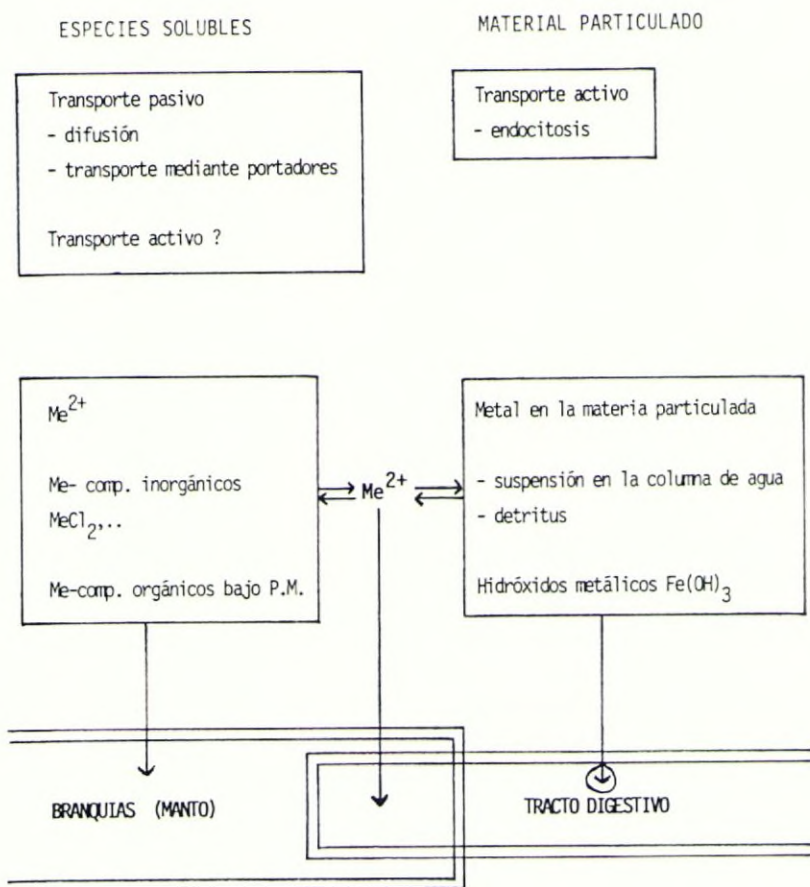


Fig. 2.— Mecanismos posibles de incorporación de metales en invertebrados marinos.

treath (1973) en un experimento empleando marcadores isotópicos (^{65}Zn , ^{54}Mn , ^{58}Co y ^{59}Fe) con *M. edulis* en ayunas durante 42 días, concluyó que la incorporación directa del metal era mínima en comparación con la que se producía desde el alimento o material particulado. Young (1977) también realizó una experiencia con *Nucella lapillus* en ayunas y alimentado y comparó los resultados con un experimento similar realizado con un herbívoro gasterópodo *Littorina obtusata*. Entre las conclusiones que llegó este autor cabe señalar (tabla 5): que en el caso de la especie carnívora a través del agua de mar no se producía más del 1% de la incorporación de Zn o Fe, mientras que en el caso de la especie herbívora esta vía suponía el 34%. En términos absolutos el contenido de metal en la dieta de la especie *Littorina obtusata* es menor y también la cantidad que almacena en su cuerpo es inferior. Por otro lado, el metal que se encuentra almacenado en el cuerpo es sólo parcialmente intercambiado y en animales mantenidos en ayunas no se produce una pérdida de las reservas de manera rápida, estos resultados llevaron a postular que, en estas condiciones, la incorporación desde el agua

se realiza de una manera más efectiva o que hay mecanismos de regulación que evitan la pérdida de estos iones. Schulz-Baldes (1974) para el Pb en *M. edulis* concluye que en condiciones naturales la incorporación tiene lugar de manera similar desde el alimento y el agua.

Los estudios sobre incorporación de metales desde el sedimento no son abundantes. Luoma y Jenne (1977) estudiaron la incorporación de Co, Ag y Zn en *Macoma baltica*, y concluyeron que la disponibilidad de los metales era estrechamente dependiente del tipo de sedimento implicado. En un estudio de campo llevado a cabo por Luoma y Bryan (1978) encontraron que en *Scrobicularia plana* la incorporación de plomo se halla influida por el contenido en Fe de los sedimentos.

Los metales una vez que entran en el sistema sanguíneo pueden ser excretados, retenidos o distribuidos por el cuerpo. La posibilidad de que proteínas específicas de la sangre sean responsable de la regulación de elementos trazas es un tema estudiado con bastante detalle en vertebrados (Harrison y Hoare, 1980), pero sobre el que en moluscos el bagaje de conocimientos es escaso. En *Sepia officinalis* se han identificado proteínas enlazantes a Zn (Declair et al., 1978), y a Cu (George y Pirie, 1980) en *M. edulis*.

En los moluscos existen también un gran número de hemocitos ameboides (amebocitos), Fig. 3; estas células se mueven a través del cuerpo en la hemolinfa y pueden penetrar en un gran número de tejidos del cuerpo. La importancia que estos amebocitos tienen en el metabolismo de los metales ha sido señalado por Ruddel y Rains (1975). Se han desarrollado diversas teorías para explicar el papel que desempeñan estas células, no siendo ninguna satisfactoria totalmente, desde aquellas en las que se considera que los metales en forma particulada o asociado a proteínas parcialmente

TABLA 5

Metabolismo del Fe y el Zn en los gasterópodos *Nucella lapillus* (carnívoro) y *Littorina obtusata* (herbívoro). (Young, 1975, 1977).

	<i>N. lapillus</i>		<i>L. obtusata</i>	
	Zn	Fe	Zn	Fe
¹ Incorporación desde el agua	0.24	0.008	0.38	0.087
¹ Incorporación desde el alimento	23.10	2.90	1.10	0.91
² Metal en el alimento	551	83.7	43	35
² Metal en tejidos	225	48	32.9	34.6
² Metal intercambiable en tej.	146	31.3	14.1	14.5

¹ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)

² ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

desnaturalizada son fagocitados indiscriminadamente, o bien que estas células representan un sistema de desintoxicación, de manera que eliminan iones metálicos de la hemolinfa y mantiene la concentración en sangre por debajo de niveles tóxicos y por último aquella que atribuye a los amebocitos un papel específico de transporte de metales en el cuerpo.

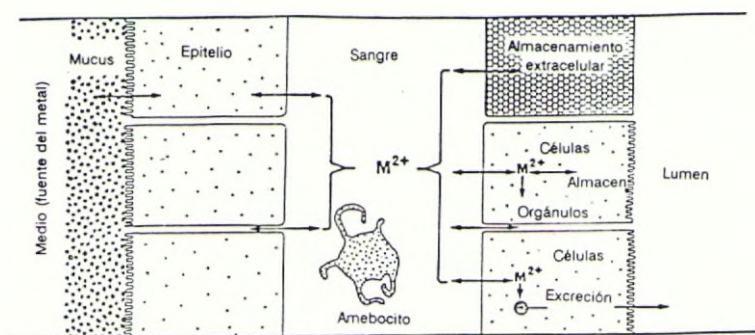


Fig. 3.- Interpretación de la relación entre el metal y los sistemas encargados de metabolizarlos (Simkis y Masson, 1983).

De todos modos, el transporte de metales en los moluscos es un tema sobre el que no se posee un nivel de conocimiento adecuado, ya que hay ejemplos en donde se pone de manifiesto que los metales pueden alcanzar los tejidos de manera rápida mediante esta vía, mientras que en otros casos se puede producir la acumulación y el almacenamiento.

Efectos de los metales sobre estructuras celulares.

Membrana plasmática.

La membrana plasmática es la primera estructura con la que se encuentra el metal que penetra en el interior de la célula. Los metales se enlazan a las proteínas de membrana y a los fosfolípidos y alteran su estructura y función (Evtushenko, 1986). Entre los efectos que se atribuyen a los metales Hg, Cd, Cu y Ag se encuentra la inhibición de la Na, K-ATPasa, que regula la concentración de K^+ (Lehninger, 1970). Otro de los efectos que ejercen los metales pesados sobre la estructura de la membrana es la estimulación del proceso de peroxidación lipídica. No obstante la célula posee mecanismos de defensa contra la peroxidación como son: la actividad de enzimas solubles que actúan en las etapas de iniciación de la misma (superóxido dismutasa, catalasa) y en las de propagación (enzimas del ciclo del glutatión) convirtiendo los hidroxiperoxidos en formas no tóxicas y la acción de compuestos antioxidantes hidrofílicos (GSH, vitamina C y uratos) y lipofílicos (vitamina E y carotenoides). Los metales pueden ejercer su efecto tóxico inhibiendo las enzimas -SH (DNA y RNA polimerasas, Ca-ATPasa, Na, K-ATPasa,...) por enlace directo (Viarengo, 1985) o por descensos de la concentración de compuestos antioxidantes (especialmente del GSH) (Bellomo et

al., 1985), ya que este tripéptido es el más poderoso antioxidante celular. La posibilidad de que la concentración de GSH se modifique durante el ciclo estacional, como ha sido puesto de manifiesto por Canesi (1989) en el *Mytilus*, puede modificar la sensibilidad de la célula a los daños peroxidativos debido a los metales pesados.

Citosol.

Cuando el metal penetra en la célula (cruza la membrana celular), ellos pueden reaccionar con distintos componentes celulares, en un primer lugar con los componentes estructurales y enzimáticos de la membrana y posteriormente con enzimas solubles, metabolitos y organelos. Debido a la elevada afinidad que los metales poseen por grupos -SH, ellos son acomplexados por moléculas que contengan este grupo, tales como aminoácidos, péptidos (GSH), proteínas y entre éstas tienen especial relevancia las metalotioneínas. Una parte del metal será compartimentalizado en el sistema vacuolar lisosomal o atrapado en gránulos inorgánicos (Viarengo, 1985, 1989). En la figura 4 se representa un esquema general de las posibles interacciones con los componentes celulares.

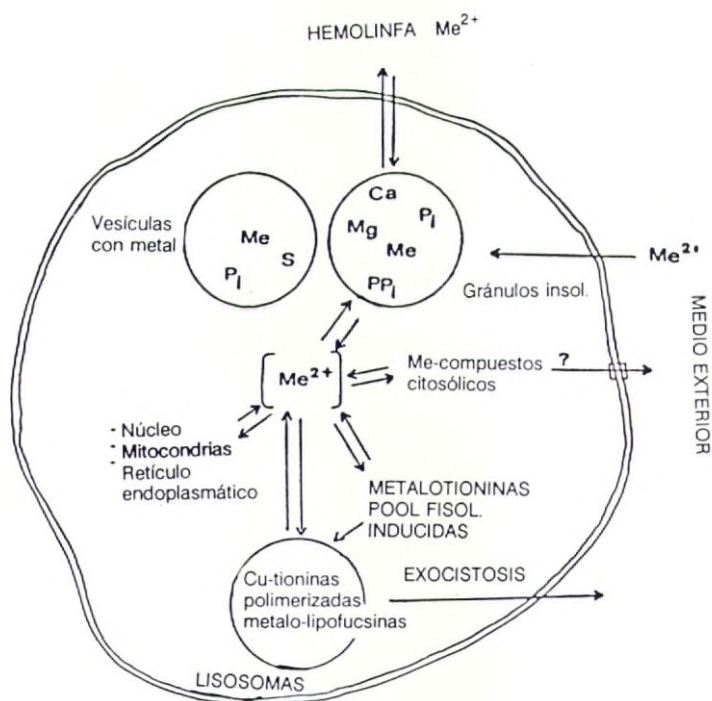


Fig. 4.- Esquema de los posibles mecanismos de interacción del metal con las estructuras celulares (Viarengo, 1989).

Enzimas citosólicas.

Uno de los aspectos que más interés despierta en relación al efecto bioquímico de los metales pesados es la acción que los mismos poseen sobre las enzimas y en consecuencia sobre el metabolismo intermediario, al provocar alteraciones en la actividad de enzimas llave («key enzymes») (Livingstone, 1982).

Los metales se pueden unir con las enzimas de muchas maneras entre las que se encuentran el enlace a grupos sulfhidrilos, la quelación y la formación de sales (Jakim, 1974). Las posibles funciones de los iones metálicos en las enzimas se señalan en la figura 5 (Simkis-Masson, 1983). El enlace de un metal a una molécula de enzima puede tener efectos perjudiciales, inhibiendo su actividad, o beneficiosos, incrementando su actividad catalítica (Eichorn et al., 1969).

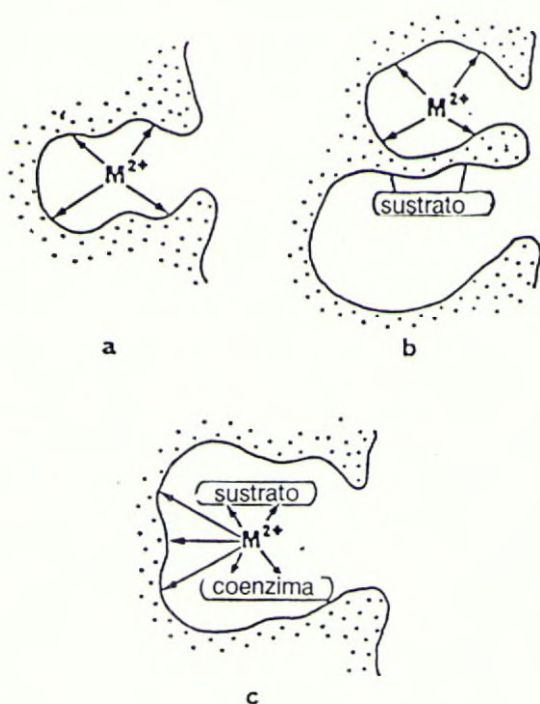


Fig. 5.- Posibles funciones de los metales en las enzimas, a) el enzima existe con el metal, b) el metal al lugar de enlace del sustrato y c) el metal enlazado al sustrato.

La acción de un metal sobre un enzima puede variar dependiendo si su actividad se ensaya «in vivo», exponiendo el organismo al metal durante el periodo en que se encuentra el mismo establecido o «in vitro», mediante la adicción directa del metal

en la mezcla de incubación. Los resultados obtenidos por Establier et al., (1984) en la especie *Sparus aurata* y Gutierrez et al., (1987) en *Halobatrachus didactylus* (Fig. 6) muestran en ambos casos que a concentración 1 mM «in vitro» se producía una fuerte inactivación por Hg, si bien ésta era más acusada en el caso de la especie *Sparus aurata*, así como que el efecto de inactivación era dependiente de la concentración en la mezcla de ensayo, ya que cuando la concentración disminuía de 1 mM a 1 μ M esta inhibición desaparecía y se recuperaba el valor de la actividad que poseía el control. Puppo et al., (en prensa) observaron que la enzima aspartato amino-transferasa (AST) era inhibida «in vivo» por Cd en la especie *Ruditapes philippinarum*, mientras que no se producía ninguna modificación significativa de su actividad en el bivalvo *Ruditapes decussatus*. (Fig. 7).

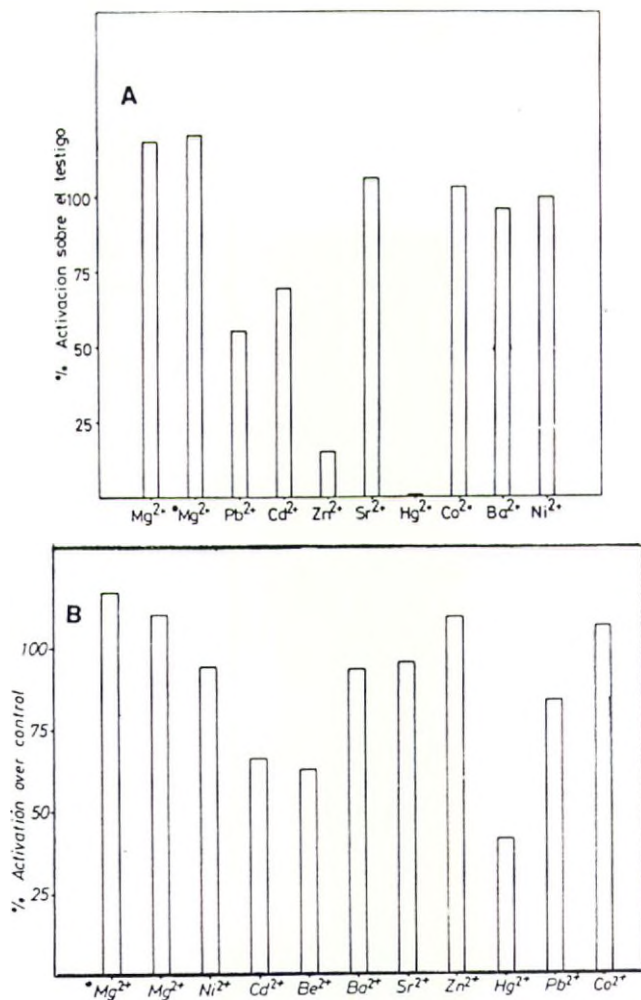


Fig. 6.- Efecto de distintos metales sobre la actividad fosfatásica en el riñón de *Sparus aurata* (A) y *Halobatrachus didactylus* (B).

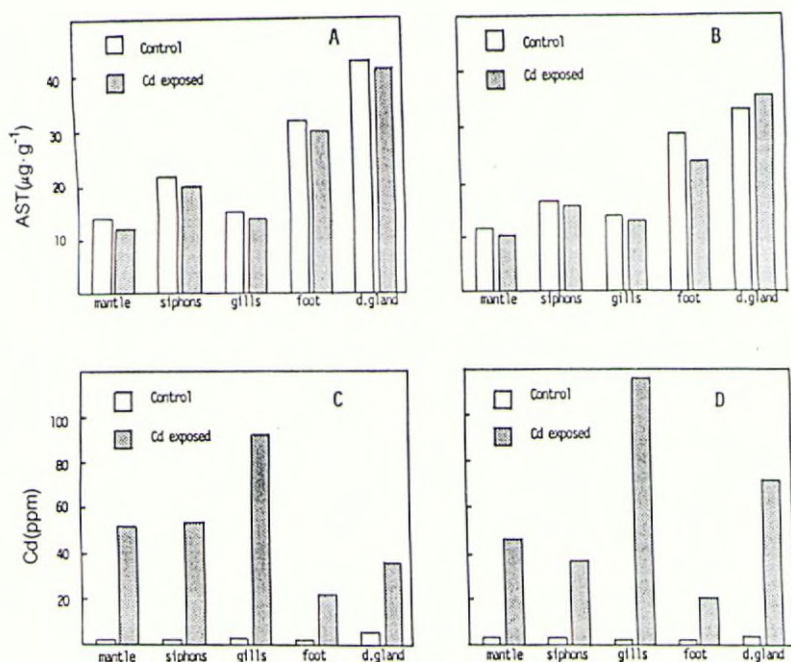


Fig. 7.— Actividad AST en *Ruditapes philippinarum* (A) y *Ruditapes decussatus* (B) y distribución de Cd en *Ruditapes philippinarum* (C) y *Ruditapes decussatus* (D). Los resultados son pool de 5 ejemplares.

En algunos casos el efecto de un metal sobre una determinada reacción enzimática no es directo, sino que puede tener lugar por modificación del «status» hormonal. Voogt et al., (1987) han señalado que el Zn y el Cd pueden estimular la biosíntesis de hormonas esteroides en *Asterias rubens*.

Los datos acerca de los efectos «in vivo» de los metales sobre las enzimas deben ser interpretados con cautela, ya que debido a la diferencia en la fisiología y bioquímica entre diferentes especies es imposible describir el efecto de un metal en términos de alteración del metabolismo intermediario para un grupo heterogéneo de organismos acuáticos.

Glutación.

Los metales pueden formar también complejos con compuestos citosólicos de bajo peso molecular, la mayoría de los cuales son sustratos de reacciones enzimáticas (Scoppa, 1975; Zaba y Harris, 1978). De entre los complejos que se forman se atribuye una especial importancia al que forma con el glutatión (GSH). Este tripéptido representa más del 90% del tiol de las células animales, y se encuentra en las mismas a

concentración mM (Meister, y Anderson, 1983). La importancia biológica del mismo se halla asociada a que junto con el NADH y NADPH forman el sistema celular implicado en el mantenimiento del potencial redox (Redd y Beatty, 1980).

El papel que se le atribuye al GSH es actuar como secuestrador de radicales libres, producidos en el proceso de peroxidación lipídica, y también se ha descrito que tiene la posibilidad de unirse directamente al metal (Viarengo, 1985). La presencia de Zn y Cu se ha detectado en la fracción de compuestos de bajo peso molecular (LWM), resultantes del estudio mediante filtración de gel de preparaciones citosólicas (Coombs, 1974; Fayi y George, 1985). Aunque ciertos aminoácidos (cisteína, histidina), nucleótidos, compuestos heterocíclicos o metabolitos participan en el proceso de enlace a metal, la posibilidad que en organismos marinos el GSH desempeñe un papel importante en la conjugación y eliminación del Zn y posiblemente para otros metales pesados ha sido señalado por algunos autores (Viarengo, 1989; Canesi, 1989).

Metalotioneínas.

Los metales pesados también interaccionan con unas moléculas, presentes en la célula, denominadas metalotioneínas (MT). Estas moléculas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino animal y se piensa que sus funciones principales en animales superiores son regular el metabolismo intracelular de Cu y Zn y absorber estos minerales del intestino (Cherian y Goyer, 1978). La síntesis de esta proteína se induce en presencia de metales de los grupos IB y IIB por lo que también se les ha implicado en los mecanismos de desintoxicación de estos metales (Nordberg y Kojima, 1979).

TABLA 6

Características generales de las metalotioneínas

Proteínas solubles de bajo P. M.
Elevada afinidad por los metales pesados.
Estabilidad térmica.
Escasez de presencia de aminoácidos aromáticos.
Alto contenido en cisteína.

Control del metabolismo del Zn y el Cu.
Enlace a las cantidades en exceso de M (z+).
Redistribución de metales trazas esenciales.

Síntesis de tioneínas nuevas.

Las características generales que poseen estas proteínas se muestran en la tabla 6. Las MT de peces aunque son similares a las de mamíferos presentan algunas diferencias entre las que cabe señalar las siguientes: la MT hepática de mamíferos tiene un contenido en residuos de cisteína de aproximadamente de 30 (Cherian y Goyer, op. cit; Nordberg y Kojima, op. cit.), mientras que algunos investigadores han registrado un número menor para hígado de peces, 25 (Noel y Lambot, 1978), 16 (Overnell et al., 1977) y Bouquegneau et al., (1975) que indican menos de 9; también se observan diferencias en relación al número de isómeros resueltos, mientras que en mamíferos se aprecian dos MT, en peces se han detectado 1 (Overnell y Coombs, 1979), 2 (Kito et al., 1982) y 3 (McCarter et al., 1982) formas isoméricas. En este punto, sin embargo, surge la duda si las diferencias encontradas pueden ser el resultado de los distintos procedimientos de separación empleados. Otra diferencia entre ambas MT radica en el número de átomos de Zn y Cu que contienen.

Los invertebrados marinos también muestran diferencias en la composición de aminoácidos en relación a los mamíferos. En la tabla 7 se muestra la composición de aminoácidos para MT de diversos orígenes. No obstante, la similaridad entre las distintas MT son evidentes desde el punto de vista estructural y funcional. Las diferencias observadas pueden indicar una «adaptación en la evolución molecular» (Viarengo, 1989).

TABLA 7

Composición de aminoácidos de metalotioneinas de distintos orígenes.

Aminoácidos	Cu-MT mejillón	Cd-MT mejillón	Cu-MT rata
1/2 Cys	17,4	20,0	30,0
Asp	9,6	9,1	8,5
Thr	7,7	6,3	3,8
Ser	9,7	6,5	15,0
Glu	5,5	5,8	6,3
Pro	4,7	3,8	0,0
Gly	18,2	18,6	7,3
Ala	8,4	4,6	8,1
Val	4,0	4,2	2,3
Met	0,0	0,0	1,8
Ile	2,9	3,5	1,7
Leu	1,5	3,0	0,7
Tyr	0,0	0,0	0,0
Phe	0,0	0,0	0,3
His	1,3	0,0	0,0
Lys	6,2	11,5	14,0
Arg	2,9	1,2	0,0

El papel fisiológico de las MT no se halla completamente clarificado. En la Fig. 8 se muestra un esquema del papel que desempeñan las MT (Viarengo 1989). Aparte de que como se mencionó anteriormente se encuentran implicadas en la regulación del Zn y el Cu también se ha señalado que pueden actuar como donadores de átomos de Zn a apoenzimas del Zn, tales como la anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina y aldolasa (Udom y Brady, 1980; Bremner, 1987). En el caso del Cu no se ha encontrado que las MT desempeñen un papel similar en la reactivación de apoenzimas del Cu.

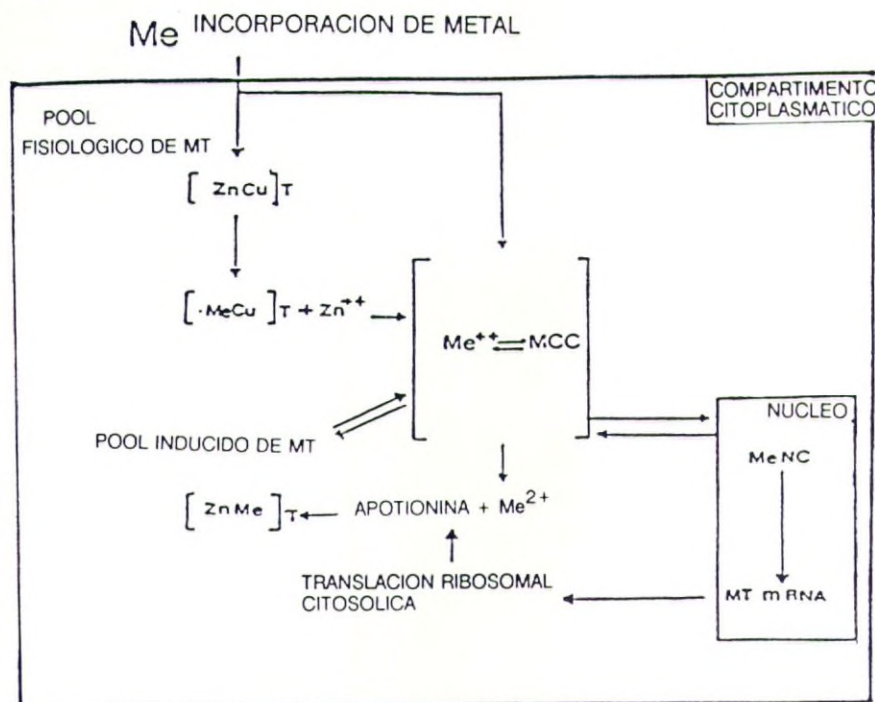


Fig. 8.- Esquema del papel desempeñado por las metalotioneínas (Viarengo, 1985).

El papel primordial que desempeñan las MT se relaciona a la capacidad de estas proteínas de mantener baja la concentración de metal libre en la célula. La presencia de un exceso de metal en forma libre da lugar a la síntesis «de novo» de MT. En mamíferos el mecanismo molecular que se encuentra implicado es la síntesis nuclear de los PolyA conteniendo RNA mensajero que codifica la formación de MT. De esta manera se produce un efecto de «feedback» que tiene por objeto garantizar la homeostasis de metales pesados en forma libre en la célula. La presencia de este mecanismo homeostático ha sido detectado en mejillones expuestos a Cu, Cd y Hg (Viarengo et al., 1980; Roesijadi et al., 1982; y en otros moluscos y crustáceos (Engel y Brouwer, 1982; Brouwer et al; 1986).

Pese a que las MT pueden regular la cantidad de metal en forma libre en la célula, siempre hay un cierto desfase entre la entrada del metal y la síntesis «de novo» de MT, durante este tiempo el metal puede ejercer un efecto tóxico. Los experimentos «in vitro» han demostrado que la afinidad de las tioneínas por los diferentes metales pesados sigue el siguiente orden: $Zn^{2+} < Cd^{2+} < Cu^{2+} < Ag^+ < Hg^{2+}$. (Kagi y Kojima, 1987; Weser y Rupp, 1979). El Cd, Hg o Cu «in vivo» son capaces de desplazar al Zn de la tioneínas preexistentes; de esta manera el pool de tioneínas puede actuar como «intercambiador» de metales tóxicos que se hallen en el citosol por Zn. El Zn puede, por tanto, estimular o contribuir a la estimulación de síntesis «de novo» de MT.

Los resultados obtenidos «in vivo» para el mejillón en la glándula digestiva demuestran que el Cu sería capaz de desplazar al Zn de las Cd, Zn-tioneínas, pero no al Cd pese a tener una mayor afinidad el Cu por los enlaces -SH (Viarengo et al., 1985).

La preexposición de peces a concentraciones subletales de metal produce un incremento en la concentración de MT. En salmones expuestos a Cu durante 4 semanas se producía un incremento en la concentración de MT en el hígado (Mc Carter y Roch., 1983). Estos autores expresan sus resultados mediante la siguiente expresión:

$$168 \text{ horas LC50} = 2.423. (MTN)_{\text{hígado}} + 48.6 \text{ (P. } < 0.03, r^2).$$

La exposición de carpas a Cd incrementaba también su concentración de MT en hepatopáncreas y riñón (Kito et al., 1982).

Otros posible papel propuesto para las MT es la protección celular al stress oxidativo por «scavenging» de los radicales hidroxilos (OH) y superóxido (O_2^-). Los radicales producen alteración en las Zn, Cu-tioneínas, se produce la formación de enlaces disulfuros y la liberación de metal. Este efecto puede ser reducido en presencia de glutathione (Thornalley y Vasak, 1985).

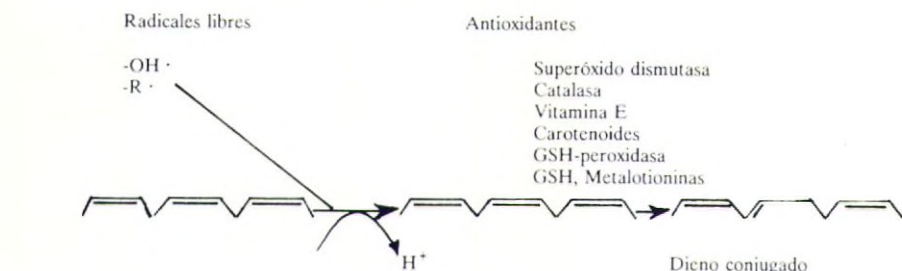
Lisosomas.

Los lisosomas, son los orgánulos subcelulares implicados en la incorporación de alimento y en la regulación de la vida media de las macromoléculas (Moore, 1982). Los resultados obtenidos en campo y en laboratorio con animales expuestos a concentraciones subletales de metal ponen en evidencia que estos orgánulos pueden acumular metales pesados (Sernlieb y Goldfisher, 1976; Coombs y George, 1978).

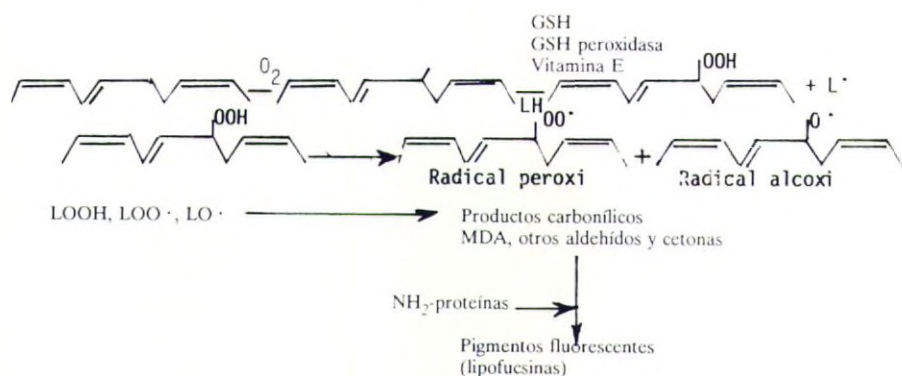
Los productos no degradables y los productos finales de la peroxidación lipídica tienden a acumularse en los lisosomas en forma de un polímero que contiene lípidos oxidados y proteínas (lipofuscina) (George, 1983a, 1983b). La peroxidación lipídica engloba un conjunto complejo de reacciones bioquímicas (Fig. 9). Bus y Gibson (1979) distinguen tres etapas, una primera en donde se produce la generación de radicales lipídicos, una segunda de peroxidación en donde se mantienen los radicales libres y una tercera en donde la reacción finaliza por destrucción de los radicales libres. Los radicales peroxilipídicos producidos durante las reacciones de propagación pueden

PEROXIDACION LIPIDICA

Iniciación



Propagación



Terminación

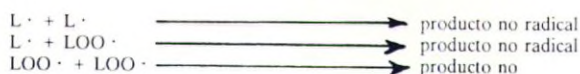


Fig. 9.- Esquema general de los procesos de peroxidación lipídica.

actuar sustrayendo átomos de H de proteínas próximas y aparecen uniones cruzadas lípido-proteína y proteína-proteína. La acumulación de esta clase de productos da lugar a la aparición de gránulos de lipofucsina. La lipofucsina lisosomal puede enlazar a los metales de dos formas distintas: 1) mediante reacción con los grupos acídicos de lípidos oxidados y la fracción proteica asociada presente en la región externa de los gránulos. Se trata en este caso de un metal débilmente enlazado y en equilibrio con los iones citoplasmáticos, 2) el metal puede ser «atrapado» en un gránulo de lipofucsina, de esta manera queda estéricamente impedida su posibilidad de movimiento fuera del gránulo. Este segundo mecanismo posibilita que concentraciones de metales puedan ser acumuladas en el sistema vacuolar en forma no tóxica y que se eliminen de la célula por excreción de cuerpos residuales. En la Fig. 10 se representa de manera esquemática los distintos mecanismos implicados en la compartimentalización lisosomal de metales pesados.

Fe y ricos en ferritina. Los dos primeros se hallan implicados en la homeostasis de metales pesados y el último se relaciona con el metabolismo del Fe. Para el primer tipo de gránulo se ha demostrado que desempeña un papel fundamental en la reducción de los efectos citotóxicos; los estudios llevados a cabo con el microscopio electrónico demuestran que el Cu y el Zn pueden ser inmovilizados en esas estructuras citoplasmáticas, el Cu se asocia usualmente con el S y el Zn con el P (Coombs y George, 1978; et al., 1978, y a su vez las células pueden llegar a acumular concentraciones muy grandes de metal.

Con respecto a los gránulos de Ca se han encontrado dos tipos: uno que contiene carbonato cálcico puro y que presumiblemente se trate de un depósito de Ca fisiológicamente activable (Simkiss, 1981) y un segundo tipo de gránulos de Ca con concreciones de fosfato y pirofosfato cálcico que incluye Mg, Mn, Cu, Zn, Fe,... (Simkiss y Mason, 1983). Estos últimos se encuentran implicados en procesos de desintoxicación, ya que pueden ser eliminados por excreción.

Los procesos bioquímicos que se hallan implicados en estos procesos no son conocidos, la extrapolación de los datos que se disponen en células de mamíferos hacen suponer que la formación del gránulo implique la actividad de una bomba de Ca. La Ca-ATPasa puede dar lugar a un enriquecimiento de la vesícula en Ca y alcalinizar el pH; este hecho junto con la presencia de grupos fosfatos puede dar lugar a la precipitación de sales de orto- y pirofosfato cálcico, que se acumulan en las vesículas (Viarengo, 1989).

Mitocondrias.

De los datos que se dispone en la bibliografía acerca de la distribución subcelular de metales en animales expuestos, se deduce que las mitocondrias (orgánulos implicados en la síntesis aeróbica del ATP) constituyen un lugar en donde se producen elevados acúmulos (Zaba y Harris, 1978) de los mismos. En mejillones expuestos a Cu el metal altera la membrana y permite que estos orgánulos sean permeables a polipéptidos y sean incapaces de mantener el gradiente de protones necesarios para la síntesis de ATP (Viarengo, 1985). Los metales también alteran la fosforilación oxidativa mediante su acción sobre las enzimas mitocondriales.

Retículo endoplasmático.

Los metales también son capaces de alterar la distribución ribosomal entre el citosol y el retículo endoplasmático. En la célula, en general, no hay ribosomas libres en el citosol, sino que normalmente se hallan como poliribosomas libres o agregados al retículo endoplasmático. Ord y Al-atia (1979) encontraron que la población de poliribosomas citosólicos se afecta por el tratamiento con metales. Los datos acerca de la reducción de la síntesis proteica de animales expuestos a metales se relaciona con el descenso en la síntesis de proteínas estructurales o enzimáticas y el incremento de ribosomas libres se relaciona al incremento de la síntesis de algunas proteínas solubles.

Los metales también pueden ejercer su acción sobre las enzimas presentes en el retículo endoplasmático, la fosfatasa alcalina (AP) del *Mizuhopecten yessoensis* expuesto a Cd reduce en un 66% su actividad en el primer mes del tratamiento (Evtushenko et al., 1986). Entre las actividades enzimáticas que se afectan por los metales pesados se halla el sistema «mixed function oxygenase» (MFO) que desempeña un papel importante en la transformación metabólica de compuestos lipofílicos y xenobióticos.

Núcleo.

El metal una vez que ha penetrado en la célula llega rápidamente al núcleo, donde se acumula (Viarengo et al., 1981) y puede interactuar con las proteínas nucleares alterando la estructura de la cromatina y la actividad de las enzimas implicadas en el metabolismo del DNA y RNA (Viarengo 1985). El metal se encuentre en forma libre o compleja puede aumentar la síntesis del RNA mensajero que codifica las MT, de esta manera se produce una respuesta celular a la intoxicación por el metal (Hamer, 1986).

Los ensayos «in vitro» demuestran que los iones metálicos se enlazan a los ácidos nucleicos, grupos fosfatos, hidroxilribosa o a las bases heterocíclicas (Eichhorn, 1973). La unión de los cationes a los grupos fosfatos del DNA estabilizan la doble hélice de la macromolécula, pero por el contrario inducen la despolimerización y favorecen la hidrólisis del RNA. El enlace de metales pesados puede afectar a la correcta replicación o transcripción del DNA, así como a la translación del m-RNA en los ribosomas. En cualquier caso, no está demostrada la validez de la extrapolación simple de los estudios «in vitro» a «in vivo». No obstante, los efectos mutagénicos de Cd, Hg y otros elementos metálicos han sido señalados (Mitsumori et al., 1981). Los metales también pueden causar anomalías cromosómicas (Dixon, 1983). El empleo de técnicas para detectar daños en el DNA (Shugart, 1988) se ha empezado a utilizar en invertebrados marinos recientemente, lo que da lugar a que no se disponga una información adecuada con respecto a este punto.

Homeostasis del Ca.

Un tema que ha despertado recientemente interés es el de la ruptura de la homeostasis del Ca (al que se le atribuye el papel de «segundo mensajero» en una amplia variedad de tipos de células en mecanismos de estímulo-respuesta) debido a daños celulares por procesos oxidativos (Orrenius et al., 1985). Debido al importante papel que desempeña la Ca-ATPasa en la membrana plasmática o en el retículo endoplasmático, una inactivación de la misma podría dar lugar a una alteración de la homeostasis del Ca y en consecuencia a un efecto citotóxico. (Schanne et al., 1979). La insuficiencia de datos para la homeostasis del Ca en invertebrados marinos ha dado lugar a que se adapte la teoría de Orrenius para explicar la citotoxicidad de los metales pesados y que se hayan propuesto las siguientes hipótesis de trabajo (Viarengo, 1989) (Fig. 11). La alteración de la concentración de GSH puede provocar una alteración en el sistema de intercambio del Ca (Ca, Mg-ATPasa), lo que da lugar a un descenso en la

capacidad de bombeo al exterior de la célula de Ca y a un incremento del mismo en el citoplasma, dentro del retículo endoplasmático o en las mitocondrias, a fin de mantener la concentración de Ca libre en el «nivel» fisiológico. En el caso de que esto no fuera posible, la alteración de enzimas Ca dependientes puede provocar la alteración del metabolismo celular y como resultado final la muerte del organismo. Estas hipótesis podrían explicar la elevada toxicidad del Hg y el Cu, debido a su alta afinidad por residuos -SH. Por otro lado, el incremento de los gránulos de fosfato/pirofosfato cálcico se puede explicar como un mecanismo de activación del sistema de almacenamiento de Ca que tiene también la capacidad de compartimentalizar el metal tóxico que provoca, inicialmente, la alteración de la membrana.

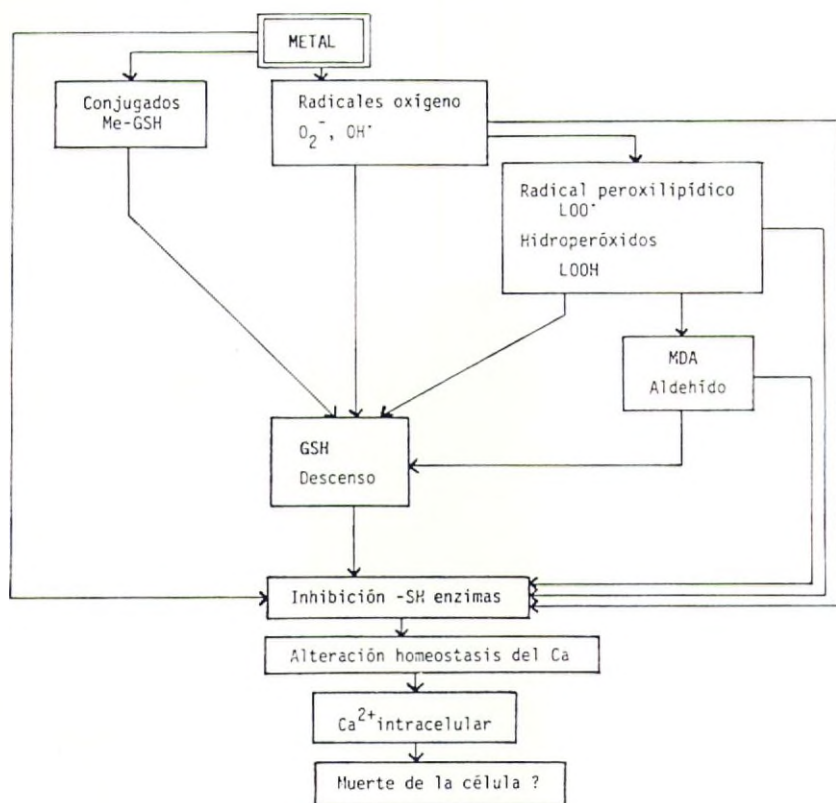


Fig. 11.- Hipótesis de la citotoxicidad de los metales pesados (Viarengo, 1989).

Indicadores bioquímicos de contaminación.

La contaminación por metales pesados, como se ha señalado anteriormente produce alteraciones en la célula, tanto desde el punto de vista de alteraciones estructurales como funcionales.

Hoy en día, como se ha visto anteriormente, se posee un cierto grado de conocimiento acerca de las respuestas fisiológicas y bioquímicas de los organismos a los procesos de contaminación. De ahí que se hayan empleado este tipo de respuestas, en el medio natural, como registro potencial de contaminación (Martin et al., 1985). De esta manera se tiende a pasar de respuestas en donde lo que se evaluaba era el efecto de la contaminación sobre el animal en su conjunto (mortalidad, crecimiento anormal, alteración de índices de condición y cambios de comportamiento), a otras de tipo bioquímico y fisiológico. El empleo de estas últimas para diagnóstico en mamíferos, incluido el hombre, se han demostrado válidas. No obstante, éstas en peces no poseen hasta el momento una aceptación general, debido a que las relaciones que se han de dar entre respuesta bioquímica y contaminación no han sido suficientemente contrastadas (Neff, 1985).

Entre los índices bioquímicos que se emplean para evaluar la contaminación se hallan la determinación de actividades enzimáticas y la composición bioquímica en sangre y tejidos, la razón taurina/glicina, la AEC (carga energética adenilato), la estabilidad de los lisosomas y la «latency» de las enzimas lisosomales, las metalotioneínas y la concentración de Ca libre citosólico.

Enzimas.

El empleo de enzimas específicas de tejidos en sangre se ha utilizado durante muchos años, en medicina clínica y veterinaria para el diagnóstico de daños específicos en determinados tejidos. Algunas enzimas e isoenzimas son específicas de uno o unos pocos órganos, de ahí que su presencia en sangre puede indicar daños en esos órganos en particular. Las enzimas AST (aspartato amino transferasa) y ALT (alanina amino transferasa) presentan un elevado interés como indicador de daño potencial del hígado. En salmónidos esta actividad es elevada en la fracción citosólica de homogeneizados de hígado (Bell, 1968). La relación que se da entre ambas en el plasma es AST/ALT (15/1), de ahí que ALT sea un índice más sensible de patología en el riñón. Otra enzima de utilidad como índice de contaminación es la δ -aminolevulinico deshidratasa, se trata de la enzima llave de la síntesis de hemoglobina, citocromo, peroxidasa y otras proteínas porfirínicas. Esta enzima se halla inhibida por Pb.

La dificultad para el empleo de las actividades enzimáticas como índices de stress surge de la falta de conocimiento en la distribución de enzimas e isoenzimas, y la falta de evaluación adecuada de otros factores como son estacionalidad, sexo, estado nutricional,... sobre las actividades enzimáticas en sangre.

El empleo de enzimas tisulares como indicador de stress en peces tiene mayores dificultades interpretativas que las enzimas en sangre, y los ensayos «in vitro» tienen escasa capacidad predictiva acerca del grado e incluso de la dirección (inhibición o estimulación) de los metales sobre las actividades «in vivo» (Jackim, 1974). Aún en ensayos «in vivo» la respuesta porcentual de un enzima no necesariamente se corresponde linealmente con la del mecanismo en que se halla implicada.

Composición bioquímica.

El stress subletal causado por distintos contaminantes puede dar lugar a alteraciones y cambios crónicos en la composición bioquímica de sangre y tejidos. En salmonidos se ha puesto de manifiesto cambios en una serie de compuestos (tabla 8); entre los que se observan más frecuentemente se hallan alteraciones en la concentración de glucógeno, proteína, lípidos, glutatión y ácido ascórbico.

TABLA 8

Efecto de la exposición «in vivo» de metales pesados sobre la concentración de componentes bioquímicos en tejidos de peces.

Compuesto	Metal	Especie	Tejido	Efecto	Referencia
Glucógeno	Cu	<i>H.fossilis</i>	hígado	inhib	Srivastava, 1982
	Cd	<i>H.fossilis</i>	riñón	activ	Srivastava, 1982
Carbohidratos	Cd,Cr,Ni	<i>Salmo gairdneri</i>	hígado	inhib	Arillo et al., 1982
Proteína	Cd	<i>Channa punctatus</i>	hígado	inhib	Dubale y Shah, 1981
	Pb	<i>Cyprinus carpio</i>	hígado	inhib	Narbone et al., 1973
Colesterol	Cd	<i>Channa punctatus</i>	hígado	inhib	Dubale y Shah, 1981
Glutatión	Cd	<i>Mugil cephalus</i>	hígado, riñón	activ	Thomas et al., 1982b
Ac ascórbico	Cd	<i>Mugil cephalus</i>	branquias	inhib	Thomas et al., 1982a

Carga energética adenilato (AEC).

La carga energética adenilato (AEC) ha sido propuesta por Atkinson (1968) como un modo de expresar el status energético de un sistema vivo. Se han identificado para el mismo tres intervalos de valores dependiendo de las condiciones ambientales: 0.8–0.9 óptimo; 0.5–0.7 en donde el organismo no se halla en condiciones óptimas pero permanece viable y <0.5. Este índice ha sido criticado (Livingstone, 1982) tanto en lo que se refiere a que sea una expresión del status energético de la célula y como factor de regulación metabólica. Una alternativa a este índice es el empleo de la relación ATP/AMP.

Latencia lisosomal.

Las enzimas hidrolíticas lisosomales son de extrema importancia en los procesos que tienen lugar en estos orgánulos y se encuentran implicadas en un proceso que se conoce como «structure-linked latency». Este fenómeno parece que está relacionado con el enlace de la hidrolasas al interior de la membrana lisosomal y a la matriz li-

poprotéica (Koenig, 1969). La reducción de la estabilidad de los lisosomas depende una serie de factores ambientales, entre los que se encuentran el secuestro de metales (Moore y Stebbing, 1976). Moore (1976) ha empleado un método citoquímico para medir la estabilidad de los lisosomas, en donde en base al tiempo de incubación (periodo de labilización) a pH 4.5 para las enzimas β -glucuronidasa y N-acetil- β -glucoasaminidasa estima la alteración que se produce en los mismos.

Calcio.

El incremento de Ca libre en el citosol celular ha sido utilizado recientemente como un posible índice de contaminación por Cu (Viarengo et al., 1988). En un experimento con mejillones en un mesocosmo (GEEP Workshop) que se exponían a Cu, estos autores apreciaban un incremento en la concentración de Ca en proporción a la intensidad de la contaminación. La concentración de Ca libre en el citosol es la que se considera relacionada con la citotoxicidad, de ahí que estos autores consideren la misma como un índice más adecuado de stress.

Metalotioneínas.

La concentración de MT parece constituir el índice bioquímico más adecuado para evaluar la contaminación por metales pesados. Este dato junto con otros como la cantidad de metal enlazado a componentes citosólicos puede incrementar la información que se tiene acerca de las interacciones que puede ejercer éstos en el metabolismo celular.

Las técnicas empleadas para cuantificar las MT se han ido modificando a lo largo del tiempo y en la actualidad el empleo de métodos como cromatografía de filtración de gel (HPLC) unido con un ICP, constituye una forma rápida de detectar MT (Mazucotelli y Viarengo, 1986). Otras técnicas recientemente empleadas para la cuantificación de las MT en invertebrados marinos son las polarográficas y las inmunológicas.

Debido a que los sistemas biológicos funcionan con una jerarquía organizada, desde célula a comunidad, la respuesta al contaminante se produce en cualquiera de estos niveles. Las respuestas bioquímicas y fisiológicas que se producen en un organismo en presencia de un contaminante pueden tener lugar en un intervalo de tiempo muy corto, de minutos a días, y pueden ser además muy sensibles. Como resultado de ello, la investigación a este nivel sobre los efectos de los contaminantes en los organismos marinos constituye un aspecto de indudable interés cuando se quiere tener un registro sobre las perturbaciones que se producen en los ecosistemas por la contaminación. No obstante, de lo anteriormente expuesto, el grado de información que se tiene es limitado, por diversas razones: el conocimiento que se posee sobre la fisiología y bioquímica de los organismos es escaso, incluso de aquellos que se emplean más comúnmente como registros de contaminación (moluscos bivalvos), la mayoría de los experimentos que se han llevado a cabo en el laboratorio se han realizado con un sólo

metal como fuente de contaminación, con lo que los efectos sinérgicos se desconocen, la información sobre el efecto conjunto de metales pesados y otras sustancias xenobióticas es pequeño, las variables ambientales (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto,...) pueden ejercer una influencia importante sobre los mecanismos de intoxicación y desintoxicación y los ciclos estacionales y madurativos también pueden ejercer una influencia en cuanto a la toxicidad de determinados metales. Parece evidente que la complejidad de factores ambientales hace que existan muchas interrogantes en este tema de investigación, pero lo que también parece necesario es realizar un esfuerzo importante para que paulatinamente éstas vayan disminuyendo y el grado de información que se tenga sobre los mecanismos celulares de intoxicación y desintoxicación de los contaminantes en general y de los metales pesados en particular permitan diseñar de una manera científica los controles necesarios para la preservación del ecosistema marino.

BIBLIOGRAFIA:

- ATKINSON, A.E. - 1968. *Biochemistry*, **7**, 4030.
- BELL, G.R. - 1968. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **25**, 1247.
- BELLOMO, G., RICHELMI, P., MIRABELLI, F., MARIONI, V. & ABBAGNANO, A - 1985. En «*Free Radicals in Liver Injury*», Poli, G., Cheeseman, K.H., Dianzani, M.U., & Slater, T.F., Eds. IRL Press, Oxford, 139.
- BEVELANDER, G. & NAKAHARA, H. - 1966. *Biol. Bull.*, **131**, 76.
- BOUQUEGNEAU, J.M., GERDAH, C., & DISTECHE, A. - 1975. *FEBS Letters*, **55**, 173.
- BOUQUEGNEAU, J.M., & GILLES, R - 1979. En «*Metabolism and osmoregulation in animals*». Gilles, R. Ed., Jhon Wiley & Sons, New York, 563.
- BREMMNER, I. - 1987. En «*Metallothionein II*». *Experientia Suppl.*, **52**, 81.
- BROUWER, M., WHALING, P. & ENGEL, D.W. - 1986. *Environ. Health Perspect.*, **65**, 93.
- BRYAN, G.W. - 1976. En «*Marine Pollution*», Jhonston R. Ed., Academic Press, London, 185 p. .
- BRYAN, G.W. - 1979. *Trans. R. Soc. London Ser. B.*, **286**, 483.
- BUS, J.S. & GIBSON, J.E. - 1979. En «*Reviews in Biochemical Toxicology*», Hodgson, E., Bend, J.R. & Phyllpot, R.M. Eds., Elsevier, Amsterdam, 125 p.

- CANESI, L. - 1989. «Meccanismi di omeostasi e citotossicità dei metalli pesanti in *Mytilus galloprovincialis* Lam.: Possibili applicazioni nel campo dell'ecotossicologia». Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali. Università Degli Studi di Genova, 221 p.
- CARPENE, E. & GEORGE, S.G. - 1981. *Mol. Physiol.*, **1**, 23.
- COOMBS, T.L. - 1974. *Mar. Biol.*, **28**, 1.
- COOMBS, T.L. & GEORGE, S.G. - 1978. En «*Physiology and Behaviour of Marine Organisms*», Mc Lusk, D.S. & Berry B.J. Eds., Pergamon Press, Oxford, 179.
- COUSINS, R.J. - 1985. *Physiol. Rev.*, **65**, 238.
- CHERIAN, M.G. & GOYER, R.A. - 1978. *Life Sci.*, **23**, 1.
- CHAVPIL, M. - 1973. *Life Sci.*, **13**, 1041.
- DECLAIR, W., WLDENCK, A., GELADI, P. & GRIEKEN, R. VAN. - 1978. *Comp. Biochem. Physiol.*, **60B**, 347.
- DIXON, D.R. - 1983. *Mar. Poll. Bull.*, **14**, 282.
- EICHORN, G.L., CLARK, P. & TARIEN, E. - 1969. *J. Biol. Chem.*, **244**, 937.
- EICHORN, G.L. - 1973. «*Inorganic Biochemistry*», Eichorn, G.L. Ed. Elsevier, Amsterdam, 1210 p.
- ENGEL, D.W., SUNDA, W.G. & FOWLER, B.A. - 1981. En «*Biological Monitoring of Marine Pollutants*», Vernberg, F.J., Calabrese, A., Thurberg, F.P. & Vernberg, W.B. Eds., Academic Press, New York, 127 p.
- ENGEL, D.W. & BROUWER, M. - 1982. *Mar. Environm. Res.*, **14**, 139.
- ESTABLIER, R., GUTIERREZ, M., BLASCO, J., SARASQUETE, M.C. & BRAVO, E. - 1984. *Inv. Pesq.*, **48(3)**, 527.
- EVTUSHENKO, E.S., BECHEVA, N.N. & LUKYANOVA, O.N. - 1986. *Comp. Biochem. Physiol.*, **83C**, 377.
- FAYI, L. & GEORGE, S.G. - 1985. En «*Marine Pollution and Physiology Recent Advances*», Vernberg, F.J., Thurberg, F.D., Calabrese, A., Vernberg, W.B. Eds. University of South Carolina Press. Columbia, 145 p.
- FOWLER, B.A., WOLFE, D.A. & HETTCER, W.F. - 1975. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **32**, 1767.
- GEORGE, S.G., - 1982. En «*Physiological Mechanisms of Marine Pollutant Toxicity*», Vernberg, W.B., Calabrese, A., Thurberg, F.P. & Vernberg, F.J. Eds., Academic Press, New York, 165 p.
- GEORGE, S.G., - 1983a. *Comp. Biochem. Physiol.*, **76C**, 53.
- GEORGE, S.G., - 1983b. *Comp. Biochem. Physiol.*, **76C**, 59.
- GEORGE, S.G., PIRIE, B.J.S. & COOMBS, T.L. - 1976. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **23**, 71.
- GEORGE, S.G., PIRIE, B.J.S., CHEYNE, A.R., COOMBS, S.T.L. & GRANT, P.T. - 1978. *Mar. Biol.*, **45**, 147.
- GEORGE, S.G., PIRIE, B.J.S., CALABRESE, A. & NELSON, D.A. - 1986. *Mar. Environm. Res.*, **18**, 255.
- GEORGE, S.G., & PIRIE, B.J.S. - 1980. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **60**, 575.
- GEORGE, S.G., & VIARENGO, A. - 1985. En «*Marine Pollution and Physiology, Recent Advances*», Vernberg, F.J., Thurberg, F.P., Calabrese, A. & Vernberg, W.B., Eds. University of South Carolina Press, Columbia, 175 p.
- GUTIERREZ, M., ESTABLIER, R., BLASCO, J. & SARASQUETE, M.C. - 1987. *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, **87-88**, 161.

- GUTKNEGT, J. - 1981. *J. Memb. Biol.*, **61**, 61.
- GUTKNEGT, J. - 1983. *Biochem. Biophys. Acta.*, **735**, 185.
- HAMMER, D.H. - 1986. *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 913.
- HARRISON, P.M. & HOARE, R.J. - 1980. *Metals in Biochemistry*. Chapman & Hall, London, 325 p.
- JACKIM, E. - 1974. En «*Pollution and Physiology of Marine Organisms*», Vernberg, F.G. & Vernberg W.B., Eds. Academic Press, New York, 59.
- KAGI, J.H.R. & KOJIMA, Y. - 1987. *Experientia Suppl.*, 52.
- KITO, H., TAZAWA, T., OSE, Y., SATO, T. & ISHIKAWA, T. - 1982. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73C**, 129.
- KOENIG, H. - 1969. En «*Lysosomes in Biology and Pathology*» 2 ed. J.T. Dingh & H.B. Bell, Eds., Elsevier, Amsterdam, 111.
- LEHNINGER, A.L. - 1970. *Bioquímica*. Ed. Omega, Barcelona, 1117 p.
- LIVINGSTONE, D.R. - 1982. *Mar. Poll. Bull.*, **13**, 261.
- LOWE, D.M. & MOORE, M.N. - 1979. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **59**, 851.
- LUOMA, S.N. & JENNE, E.A. - 1977. En «*Biological Implications of Metal in the Environment*», H. Drucker & R.E. Wieding, Eds., CON-750929 U.S. Natl. Tech. Inf. Ser. Springfield, Virginia, 213.
- LUOMA, S.N. & BRYAN, G.W. - 1978. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **58**, 793.
- MANCE, G. - 1987. *Pollution Threat of Heavy Metals in Aquatic Environment*. Elsevier Applied Science, London, 372 p.
- MARTIN, M. - 1985. *Mar. Poll. Bull.*, **16(4)**, 140.
- MAZUCOTELLI, A. & VIARENGO, A. - 1986. *Anal. Biochem.*, **153**, 305.
- MCCARTER, J.A., MATHESON, A.T., OLAFSON, R.W. & BUCKLEY, J.T. - 1982. *Comp. Biochem. Physiol.*, **72C**, 21.
- MCCARTER, J.A. & ROCH, M. - 1983. *Comp. Biochem. Physiol.*, **74C**, 133.
- MEISTER, A & ANDERSON, M.E. - 1983. *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 711.
- MITSUMORI, K., MAITA, K., SAITO, T., TSUDA, S. & SHIRASU, Y. - 1981. *Cancer Lett.*, **12**, 305.
- MOORE, M.N. - 1976. *Cell Tissue Res.*, **175**, 279.
- MOORE, M.N. - 1981. En «*Analysis of Marine Ecosystems*», Longhouse, A.R. Ed., Academic Press London, 535.
- MOORE, M.N. - 1982. *Mar. Poll. Bull.*, **12**, 42.
- MOORE, M.N. & STEBBING, A.R.D. - 1976. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **56**, 995.
- NEFF, J.M. - 1985. En «*Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium*», ASTM STP 854, R.D. Cardwell, R. Purdy & R.C. Bahner, Eds., American Society for Testing Materials, Philadelphia, 155.
- NOEL, & LAMBOT, - 1978. *Experientia*, **32**, 324.
- NORDBERG, M. & KOJIMA, Y. - 1979. En «*Metallothionein, Proc. 1st intmeet on metallothionein and other low molecular weight metal binding proteins*», Zurich, July, 17-22., J.H.R. Kagi & Y. Kojima, Eds. Birkhauser Verlag, Boston, 41.
- ORD, M.J. & AL-ATIA, G.R. - 1979. En «*The Chemistry, and Biology of Cadmium*», M. Webb, Ed., Elsevier/North Holland, Amsterdam, 4.
- ORRENIUS, S., THOR, D., DI MONTE, D., BELLOMO, G., NICOTERA, P., ROSS, D. & SMITH, M.D. - 1985. En «*Mechanisms of Cell Liver Injury*», 28.

- ORTNER, P.B. KREADER, C. & HARVEY, G.R. – 1983. *Biochem. J.*, **183**, 277.
- OVERNELL, J. & COOMBS, T.L. – 1979. *Biochem. J.*, **183**, 277.
- OVERNELL, J., DAVIDSON, I.A. & COOMBS, T.L. – 1977. *Biochem. Soc. Trans.*, **5**, 267.
- PENTREATH, R.J. – 1973. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **53**, 127.
- PIRIE, B., FAYI, L. & GEORGES, S. – 1985. *Mar. Environm. Res.*, **17**, 197.
- PILLIPS, D.J.H. – 1980. *Quantitative Aquatic Biological Indicators*. London. Applied Science Publishers, 488 p.
- REED, D.J. & BEATTY, P.W. – 1980. En *Reviews in Biochemical Toxicology*, Hodgson, E., Bend, J.R. & Hulpot, R.M. Eds. Elsevier. Amsterdam, 213.
- ROESIJADI, G. – 1982. *Mar. Biol.*, **66**, 51.
- ROESIJADI, G., CALABRESE, A. & NELSON, D. – 1982. En *Physiological Mechanisms of Marine Pollutant Toxicity*, Vernberg, W.B., Calabrese, A., Thurberg, F.P. & Vernberg F.J. Eds., Academic Press, New York, 205 p.
- RUDELL, C.L. & RAINS, D.W. – 1975. *Comp. Physiol.*, **51A**, 585.
- SCHANNE, F.A.X., KANE, A.B., YOUNG, E.E. – 1979. *Science*, **206**, 700.
- SCHUZ-BALDES, M. – 1974. *Mar. Biol.*, **25**, 177.
- SCOPPA, P. – 1975. *Z. Naturforsch.*, **30**, 555.
- SHUGART, L. – 1988. *Mar. Environm. Res.*, **24**, 321.
- SIMKISS, K. – 1975. *Trends. Biochem. Sci.*, **6(4)**, 3.
- SIMKISS, K. & MASON, A.Z. – 1983. En *Mollusca*, vol., 2., Hochachka, P. Ed., Academic Press, New York, 101.
- STERNLIEB, I. & GOLDFISCHER, S. – 1976. En *Lyssomes in Biology and Pathology*, Dingle, J.T. & DEAN, R.T., Eds. Elsevier, New York, 5.
- THORNALLEY, P.J. & VASAK, M. – 1985. *Biochem. Biophys. Acta.*, **827**, 36.
- UDOM, A.O. & BRADY, F.O. – 1980. *Biochem. J.*, **187**, 329.
- UNDERWOOD, E.J. – 1974. *Mar. Poll. Bull.*, **5**, 86.
- VIARENGO, A. – 1985. *Mar. Poll. Bull.*, **16(4)**, 153.
- VIARENGO, A. – 1989. *CRC in Aquatic Sciences.*, **1(2)**, 295.
- VIARENGO, A., PERTICA, M., MANCINELLI, G., ZANICCHI, G., & ORUNESU, M. – 1980. *Comp. Biochem. Physiol.*, **67C**, 215.
- VIARENGO, A., ZANNICHI, G., MOORE, M.N. & ORUNESU, M. – 1981. *Aquat. Toxicol.*, **1**, 147.
- VIARENGO, A., PALMERO, S., ZANICCHI, G., CAPELLI, R., VAISSIERI, R. & ORUNESU, M. – 1985. *Mar. Environm. Res.*, **16**, 23.
- VIARENGO, A., PERTICA, M., CANESI, L., BIASI, F., CECCHINI, G. & ORUNESU, M. – 1988. *Mar. Environm. Res.*, **24**, 354.
- VOOGT, P.A., DEN BESTEN, P.J., KURSTERS, C.M. & MESSING, M.W.J. – 1987. *Comp. Biochem. Physiol.*, **86C**, 83.
- WALDICHUK, M. – 1974. En *Pollution and Physiology of Marine Organisms*. Vernberg, W.B. & Vernberg, F.J. Eds., Academic Press, New York, 1.
- WESER, V. & RUPP, H. – 1979. En *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*, Webb, M. Ed. Elsevier/North Holland, Amsterdam, 7.
- YOUNG, M.L. – 1977. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **30**, 315.
- ZABA, B.N. & HARRIS, E.J. – 1978. *Comp. Biochem. Physiol.*, **61C**, 89.

CONFERENCIA 2

EL CICLO DEL CARBONO EN LOS OCEANOS

Gustave Cauwet.

Laboratoire de Sédimentologie et Géochimie Marines, Université de Perpignan,
66860 PERPIGNAN, FRANCIA.

DEFINICION DEL PROBLEMA.

En un artículo reciente WOLLAST y MACKENZIE (1989) han definido de manera precisa la dificultad que entraña el estudio del ciclo del carbono en los océanos en su relación con los problemas climáticos actuales. Hace tiempo, antes de la influencia antropogénica, en el transcurso del ciclo del carbono los flujos procedentes de la erosión y de la producción de biomasa aérea eran compensados ampliamente por los flujos de CO_2 generados en el océano, la oxidación de gases reducidos (CH_4 , CO), las emisiones volcánicas y la oxidación de detritus terrestres.

El exceso de CO_2 atmosférico, proveniente tanto de la emisión de gases generados en la combustión de carburantes fósiles (CO_2 , CH_4 , CO), como de la deforestación y de las modernas prácticas agrícolas, se considera que puede ocasionar importantes modificaciones climáticas en torno al año 2050.

Mientras, la cantidad de CO_2 acumulado en la atmósfera a lo largo de los años ochenta (3000 MTC/año) no representa más que el 56% del carbono generado por el uso de combustibles fósiles a lo largo de ese periodo. Si se considera la evolución poco favorable que han experimentado los otros factores citados (deforestación y prácticas agrícolas), hay que admitir que una parte importante del carbono que falta en el balance ha sido almacenado en los océanos.

En el transcurso de la época moderna, las relaciones entre océanos y continentes parecen haber evolucionado influidas por la actividad humana. Los ríos no solo acarrearán más carbono orgánico y mineral (LIKENS *et al.*, 1981; MEYBECK, 1982), sino que transportan cantidades considerablemente mayores de fertilizantes (nitratos,

fosfatos), como consecuencia, de una parte, de la aplicación de abonos agrícolas y, de otra, del aumento de los desechos humanos. Se ha estimado que el flujo de nutrientes aportados por esta vía al océano es alrededor de 2,5 veces superior al que tenía lugar en los tiempos geológicos (WOLLAST, 1983). Este exceso de nutrientes, que constituyen generalmente el factor limitante de la producción primaria, ocasiona necesariamente el aumento de ésta, especialmente en las zonas costeras.

Esta observación condujo a WOLLAST y MACKENZIE (1989) a contemplar dos posibles destinos para el exceso de carbono orgánico aportado por los ríos o generado en la zona costera. En la primera hipótesis, la mayor parte de este exceso es oxidado (respirado) a CO_2 y restituido a la atmósfera; en la segunda, una fracción importante escapa a la oxidación y queda almacenado en los sedimentos o en la columna de agua. Según esta hipótesis el océano ganaría alrededor de 710 MTC/año, lo que representa el 11% del flujo antropogénico hacia la atmósfera.

Hasta el momento presente los modelos climáticos no tienen en cuenta los flujos en la zona costera, aunque su contribución al exceso de carbono podría ser no despreciable. Parece, por tanto, de una importancia capital el conocer mejor los flujos de carbono en las zonas costeras ya que, sin duda, son las que están sujetas a los mayores cambios y las que mejor pueden actuar como amortiguador.

Como conclusión de un artículo muy completo sobre el ciclo del carbono y algunos elementos asociados, OLSON *et al.* (1985) admitían esta realidad elemental: el cambio está producido por un desequilibrio entre las entradas y las salidas en el sistema. Esta evidencia tiene el mérito de presentar la cuestión de una manera simple e indicar, también, el camino a seguir.

Considerando el medio marino como una gran caja, la aproximación al problema debe realizarse en tres etapas:

- 1 - evaluar los flujos que entran.
- 2 - determinar las etapas del ciclo del carbono que juegan un papel prominente en el reciclaje en el interior de la caja.
- 3 - evaluar los flujos que salen.

La figura 1 presenta un esquema simplificado del ciclo del carbono en el medio marino. Si se pretende realizar en él una evaluación prospectiva, es necesario analizar separadamente cada etapa o cada compartimento incluido dentro de ese esquema y determinar, consecutivamente, el grado de conocimiento que se posee, las informaciones que faltan y definir un plan de trabajo que permita rellenar las lagunas existentes; todo ello sin perder nunca de vista las implicaciones con los otros compartimentos.

LAS FUENTES.

1. La producción primaria:

El origen principal de carbono orgánico en los océanos reside en la producción fitoplanctónica, que convierte el CO_2 en biomasa con la ayuda de los nutrientes y

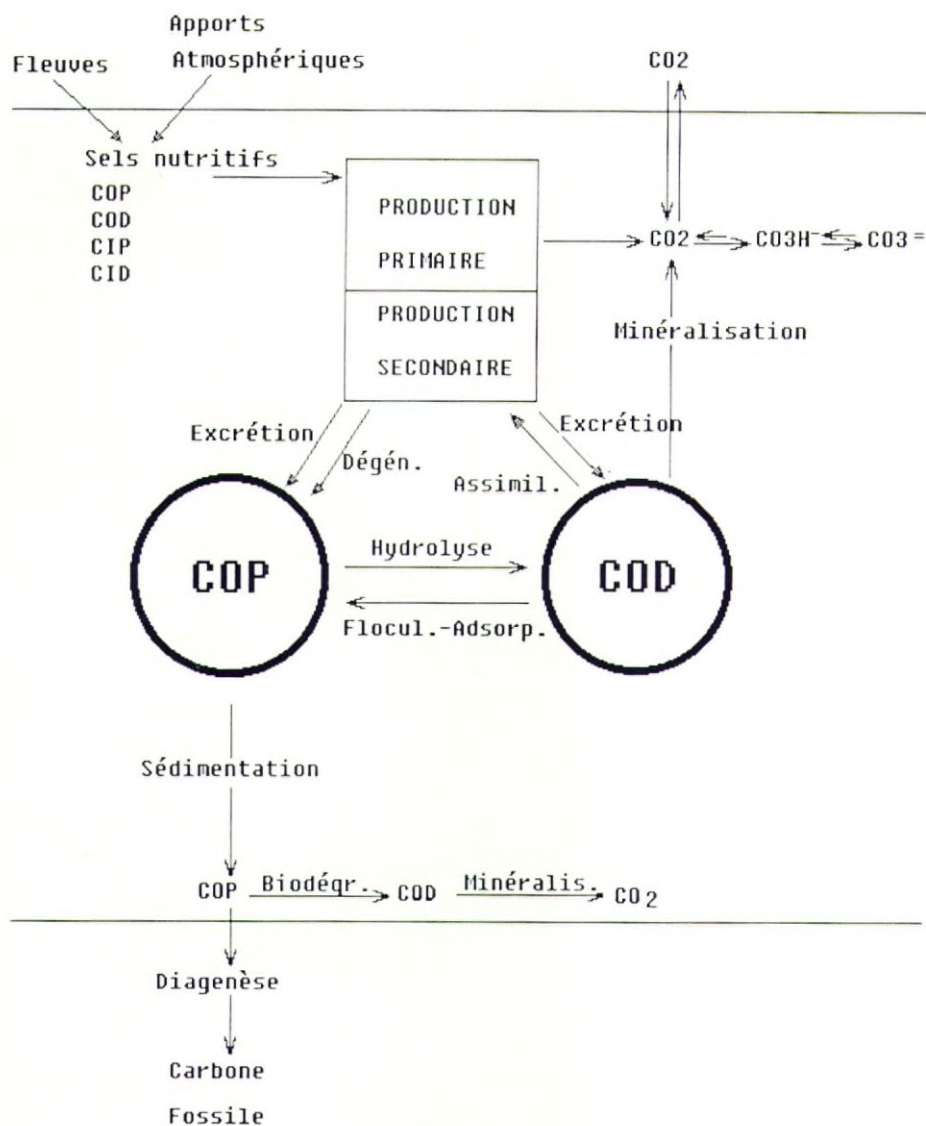


Fig. 1.- Ciclo del carbono en los océanos.

gracias a la energía lumínica. Esta entrada varía en el tiempo y en el espacio debido a que está influenciada simultáneamente por la luz, la temperatura y la concentración de nutrientes. A título de ejemplo, en el Mediterráneo occidental, la producción se ha estimado en $90 \text{ g Cm}^{-2}\text{año}^{-1}$ (MINAS *et al.*, 1988).

De hecho, el contenido de carbono de la biomasa marina está aún sujeto a controversia. La mayoría de las cifras propuestas a lo largo de los últimos decenios varían entre 1 y $5 \cdot 10^{15} \text{ g}$, siendo el valor de $3 \cdot 10^{15}$ el citado más frecuentemente (MOREL,

1990). El fitoplancton es sin duda la fracción predominante (en torno al 80%), aunque la mayor parte de los autores son cautelosos respecto a la estimación de la biomasa bacteriana, que podría haber sido subvaluada (ésta vez entre un 10 y un 20%). Los datos de satélite (valores de reflectancia del Océano) permiten en la actualidad una apreciación más general de la biomasa fitoplanctónica.

Los flujos de carbono correspondientes propuestos por diversos autores varían igualmente. BERGER *et al.* (1987) señalan una cifra sensiblemente más elevada que las estimaciones anteriores ($27 \cdot 10^{15}$ g C/año), aunque inferior a las estimaciones obtenidas a partir de los fosfatos, que se elevan hasta $40 \cdot 10^{15}$ g C/año.

Las cifras calculadas no tienen todas la misma significación. En efecto, en términos del ciclo del carbono, lo más importante no es la cantidad presente en la actualidad ni, incluso, el flujo producido dentro de la zona eufótica, sino el flujo exportado por ella. En régimen estacionario, el flujo que puede exportarse es comparable a la cantidad de carbono formado *de novo* (producción «nueva»), calculado a través de los flujos nutrientes que provienen de las capas profundas. Esta producción «nueva» corresponde al consumo de nitratos, en oposición a la producción «regenerada» (utilizando el amonio) definida por DUGALE y GOERING (1967).

Posteriormente se intentó una estimación directa de los flujos que abandonan la zona eufótica utilizando colectores de sedimentación (KNAUER *et al.*, 1979; HONJO *et al.*, 1982; MARTIN *et al.*, 1987). Esta técnica puede suponerse que proporciona un valor del flujo no solo para el carbono, sino también para otros elementos (Si, N, P,...). Sin embargo presenta algunas dificultades importantes. Los flujos medidos de esta manera son generalmente superiores a la producción «nueva» y cuestionan los valores de la producción total en la zona eufótica. Por otra parte, el haberse puesto en evidencia la existencia de importantes transportes de tipo advectivo conduce a preguntarse sobre la verdadera representatividad de los colectores de sedimentación en la medida del flujo vertical. Estas contradicciones han abocado en la actualidad a considerar dos regímenes de sedimentación: un régimen rápido, para los «pellets» fecales y los agregados («nieve marina») y un régimen de velocidades muy lentas, incluso nulas, para las partículas muy pequeñas. Así, éstas pueden ser transportadas a distancias muy largas.

Otra dificultad reside en la transferencia de una fracción del carbono particulado, tras su hidrólisis, hacia las formas disueltas, desde las que una parte es recuperado por los organismos heterótrofos. Estos intercambios entre las formas disueltas y particuladas son poco conocidos y necesitan ser cuantificados. En cualquier caso, sin considerar la fracción que escaparía en forma disuelta, se estima que alrededor del 10% de la producción primaria se exporta fuera de la zona eufótica.

2. Los aportes de los ríos:

Los aportes de carbono por los ríos han sido numerosas veces evaluados y reevaluados a lo largo de los últimos años. Es difícil realizar una estimación precisa, en la medida en que:

- Faltan datos para muchos ríos, especialmente en Papauasia-Oceanía.
- Estos datos son inciertos para algunos grandes ríos de Asia (v.g. los ríos siberianos).
- Los datos suministrados han sido obtenidos frecuentemente en cortos períodos de tiempo, por lo que raramente tienen en cuenta las variaciones estacionales.

Se han realizado, no obstante, intentos de una evaluación global de estos aportes, lo que ha proporcionado su probable orden de magnitud. KEMPE (1985) estimó los aportes totales de COT de los ríos mundiales en unos $280 \cdot 10^6$ t C/año ($28 \cdot 10^{11}$ g C/año). Este valor se ha calculado sin tener en cuenta el transporte real por los ríos y los fenómenos de resuspensión de fangos y se refieren, generalmente, a puntos de muestreo más o menos alejados de las desembocaduras. Debe pensarse, por tanto, que este estimación corresponde a un valor mínimo, y que el real debe sin duda situarse entre 3 y $5 \cdot 10^{14}$ g C/año.

Si se compara esta cifra con la producción primaria, se encuentra que es inferior en dos órdenes de magnitud y que no representa más que una parte escasa de los aportes. Sin embargo, hay otros factores importantes que deben ser tenidos en cuenta en relación a los aportes continentales:

- Estos se localizan en la zona costera y, a corto plazo, su influencia no se deja sentir en el conjunto de los océanos.
- La naturaleza de esta materia orgánica es muy diferente a la de la generada por la producción primaria y, sin ninguna duda, es más refractaria a la degradación (IT-TEKKOT, 1988). De hecho se trata de materia orgánica proveniente de manera casi exclusiva de los suelos, que ya ha sufrido una degradación forzada, y, desde este punto de vista, su entrada será más bien comparable al flujo que sale de la zona eufótica o al que llega al sedimento.

Si se acepta la hipótesis de que el 10% de la producción primaria abandona la zona eufótica y que alrededor del 10% de estos detritus alcanza el sedimento, los aportes fluviales llegan a ser en su conjunto comparables a los aportes marinos, «para un nivel de degradación equivalente». En el dominio costero, al que prácticamente están circunscritos, el vertido de los ríos debería representar un aporte muy superior al de la producción primaria. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, debido a su escasa profundidad, el flujo procedente de la capa eufótica alcanza el fondo mucho más rápidamente y representa mucho más de la centésima parte de la producción. Por tanto es probable que en la zona costera los dos flujos sean de una magnitud comparable.

En lo que concierne a la materia orgánica disuelta deben hacerse algunas matizaciones. Efectivamente el aporte total de los ríos está compuesto en sus tres cuartas partes de materia orgánica disuelta, pero es difícil predecir como se produce su dispersión hacia alta mar y, también, su reactividad. Tampoco se dispone de datos que permitan estimar la producción de carbono disuelto por la biomasa en la zona eufótica, ya sea por excreción, autólisis o hidrólisis enzimática del detritus por las bacterias.

Como se ve, los aportes de los ríos no pueden ser ignorados, especialmente en la zona costera, pero existen todavía numerosas cuestiones que esperan respuesta para poder precisar los balances.

En relación a la zona costera hay que tener presente el incremento en un factor de 2.5 de los aportes de nutrientes (nitratos, fosfatos) por parte de los ríos a lo largo del último siglo. Este enriquecimiento de la zona costera induce un aumento casi automático de la producción primaria (LOCHET y LEVEAU, 1990) que ya es de por sí más abundante en la plataforma continental. Este hecho ha desplazado el balance a favor de la producción primaria en relación a los aportes de materia orgánica por los ríos.

Este fenómeno podría tener consecuencias importantes sobre el almacenamiento de carbono por enterramiento en el sedimento en una franja litoral estrecha, y constituir un acúmulo de carbono no despreciable.

3. Los aportes atmosféricos:

Si bien los intercambios de CO_2 entre la atmósfera y el océano son importantes y bastante bien conocidos, para el carbono orgánico los datos son escasos. Se posee actualmente una abundante y representativa información de los contenidos en aerosoles o de reentradas relacionadas con los metales (MARTIN *et al.*, 1989) o de ciertas familias de compuestos orgánicos (LIPIATOU, 1989), pero ninguna, o casi ninguna, de los flujos atmosféricos de carbono orgánico.

De hecho, el fenómeno más importante en los intercambios entre la atmósfera y el océano es el incremento del flujo de CO_2 desde la atmósfera hacia el océano como consecuencia de la acumulación del CO_2 antropogénico en la atmósfera (3000 MTC/año en los últimos 10 años). Esta evolución ha invertido el sentido del flujo de carbono entre estos dos compartimentos, llegando a ser el océano un sumidero de carbono cuando en tiempos geológicos había un flujo neto de CO_2 del mar a los continentes a través de la atmósfera.

LOS FLUJOS EN LA COLUMNA DE AGUA.

Sobre la producción primaria ya se ha abordado la cuestión de los flujos de carbono que, procedentes de la zona eufótica, se dirigen hacia el fondo de los océanos. Según MOREL (1989), la cantidad de carbono almacenada en el océano se repartiría entre la forma mineral ($37700 \cdot 10^{15}$ g) principalmente en forma disuelta, el carbono orgánico disuelto ($1000 \cdot 10^{15}$ g) y la fitosfera ($3 \cdot 10^{15}$ g). De hecho hay que distinguir tres compartimentos que funcionan de manera diferente:

- La capa mezclada, que es donde tiene lugar la producción primaria y los intercambios con la atmósfera (bomba biológica).
- El océano profundo, en el que se produce un reciclaje cuya amplitud no se conoce bien.
- El sedimento, único sumidero de materia en la escala geológica.

Se admite generalmente que solo el 10% del carbono orgánico producido en la región eufótica la abandona con destino a la zonas profundas. Esta estimación se basa

en la medida de la producción «nueva» y es generalmente inferior a los flujos calculados utilizando colectores de sedimento. Esta diferencia puede significar que las partículas recogidas en los colectores no son representativas de los flujos reales, pero permite también entrever la intervención de mecanismos no tenidos en cuenta por la producción «nueva». Así, la formación de agregados a partir de la materia orgánica disuelta o coloidal podría aumentar el flujo particulado sin que intervenga la biomasa, y este mecanismo podría incluso ser interno en el océano profundo, sin intervención de la zona eufótica.

La estimación de la contribución de la zona eufótica a la producción de carbono orgánico disuelto, ya sea por excreción o por hidrólisis enzimática de residuos, es una de las incógnitas en este sistema.

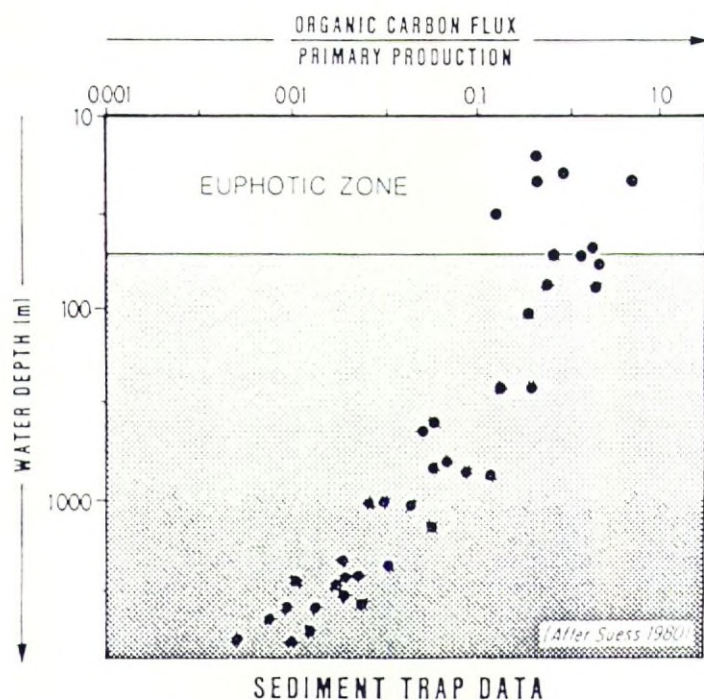


Fig. 2.- Degradación de la materia orgánica a lo largo de la columna de agua en los océanos, según los resultados obtenidos usando colectores de sedimentación (Según SUESS, 1980).

De los flujos que salen de la zona de producción solamente el 10% alcanzará el sedimento (1% de la producción) y el 90% de esta materia orgánica será reciclada en la interfase sedimentaria. Por consiguiente, solo el 0.1% del carbono utilizado para la fotosíntesis es el que será enterrado definitivamente. En la Fig 2 se representa la evolución de los flujos de carbono a lo largo de la columna sedimentaria que ha sido indicada por SUESS (1980) y HUC (1988).

LOS PROCESOS EN LA INTERFASE: REACCIONES FISICO – QUIMICAS Y ACTIVIDAD BIOLOGICA.

1. Mecanismos costeros y estuarinos:

En lo que respecta a los aportes continentales, la primera cuestión es saber si éstos afectan exclusivamente a la zona costera o, por el contrario, su influencia se extiende al conjunto de los océanos. En este sentido, la distinción entre carbono orgánico disuelto y particulado tiene su importancia, ya que se sabe que la mayor parte de los sedimentos se depositan en la zona litoral, mientras que para la fracción disuelta se puede imaginar que se produce una dilución progresiva en el agua de mar. Según las estimaciones disponibles el aporte de carbono orgánico disuelto ($< 0.5 \mu\text{m}$) supone entre tres y cuatro veces el carbono particulado, existiendo variaciones muy importantes entre los ríos con una alta turbidez (v.g. el río Amarillo, que porta hasta 100 g/l de materiales en suspensión) y los ríos de aguas negras que drenan los bosques tropicales (v.g. el Caroni) o los ríos siberianos (Lena) que tienen una gran concentración de carbono disuelto. Además, las variaciones estacionales pueden ser muy importantes.

El carbono aportado bajo la forma particulada sedimenta rápidamente con las partículas minerales y experimenta, entonces, una serie de transformaciones de larga duración. Una parte de él se mineraliza y otra se entierra definitivamente.

Por el contrario, se conoce mucho menos del comportamiento del carbono «disuelto». En numerosos casos se ha podido mostrar que una fracción, generalmente no superior al 10%, puede sufrir un proceso de floculación e incorporarse a la fracción particulada. Los agregados formados a consecuencia de este mecanismo parecen sedimentar muy rápidamente en zonas de deltas o estuarios y participar de una manera no despreciable en el enriquecimiento de los sedimentos en materia orgánica. Al ser el carbono disuelto entre 4 y 5 veces más abundante que el particulado, este aporte ($4 \times 10\% = 40\%$) puede constituir una parte importante de él. En la mayor parte de los casos constituye sin duda entre el 20 y 30% del COP suplementario que se forma y sedimenta en la desembocadura de los ríos. La existencia en el Mediterráneo de densas comunidades de un nefeloide bentónico bastante rico en carbono orgánico (3–6%) está relacionado sin duda con este fenómeno (NAUDIN *et al.*, 1991). Parece, por otra parte, que el COD implicado esté constituido frecuentemente por partículas de tamaño coloidal ($0.1\text{--}0.01 \mu\text{m}$; SEMPERE *et al.*, 1991).

Para el resto del COD nos falta todavía mucha información sobre su biodegradabilidad y su renovación.

Si se considera la escasa profundidad del agua en estos lugares, la existencia de una producción accesimal y la importancia de los aportes de los ríos, la cantidad de carbono orgánico que alcanza el sedimento debe ser notablemente más importante que en alta mar. Es, por tanto, a nivel de la interfase donde se produce una intensa degradación de la materia orgánica.

Como se ha visto antes, el incremento de la producción costera a lo largo de la época moderna acelera la sedimentación de la materia orgánica. La cuestión principal

ahora es saber si este exceso de carbono será completamente mineralizado o si la «máquina de oxidar» llega a saturarse, provocando el enterramiento de una cantidad extra de carbono.

2. La biodegradación.

El mecanismo general de degradación se conoce bastante bien. Cuando las partículas orgánicas llegan al sedimento son, en parte, capturadas e ingeridas por los organismos detritívoros y, en parte, sufren una degradación bacteriana. Merced a los exolisozimas, las bacterias rompen las estructuras poliméricas de esta materia orgánica (proteínas, polisacáridos) y producen moléculas más pequeñas, solubles y asimilables. Este mecanismo de transferencia de carbono orgánico desde la forma particulada a la disuelta es cuantitativamente importante (afecta al 90% de los aportes).

Esta materia orgánica disuelta es asimilada por los microorganismos, ya sea para aumentar su biomasa (metabolización) o como fuente de energía (respiración). Alrededor del 50% de esta materia orgánica disuelta es «respirada» y, de esta manera, oxidada a CO_2 y la otra mitad se incorpora al ciclo que ejecuta la población. Una de las incógnitas que permanecen aún es la evaluación de la fracción disuelta que escapa a la metabolización o a la oxidación y pasa a enriquecer el «stock» de COD del océano, al menos hasta su futuro consumo, ya sea bajo la forma de productos hidrolizados o después de la transformación por las bacterias en polímeros de reserva.

La materia orgánica disuelta constituye la principal llave que falta para el conocimiento del sistema, ignorándose generalmente:

- la cantidad exacta; los métodos de análisis están aún discutiéndose y muchos de los datos disponibles son dudosos.
- Las fuentes importantes (ríos, excreción planctónica, productos de biodegradación) y los valores de los flujos con que entran.
- La biodegradabilidad y los flujos que salen.
- La capacidad de floculación o, de manera más general, la capacidad de participar en la formación de agregados.

3. Enterramiento y fosilización:

Como se ha visto, la fracción mayor del carbono que llega al sedimento es reciclada, por tanto solo una fracción residual, poco importante, pasa a constituir el «stock» de carbono fósil. La degradación tiene lugar principalmente en los primeros cm del depósito sedimentario, como muestran los perfiles verticales de carbono orgánico en el sedimento (Fig. 3).

Hasta el momento presente se ha admitido que esta fracción residual constituía un «stock» no degradable debido a su naturaleza demasiado refractaria (muy polimerizado, alifático). Sin embargo, el contenido de carbono orgánico del sedimento parece depender mucho más de las características del ambiente sedimentario (velocidad de sedimentación, granulometría) que de la naturaleza de los aportes orgánicos.

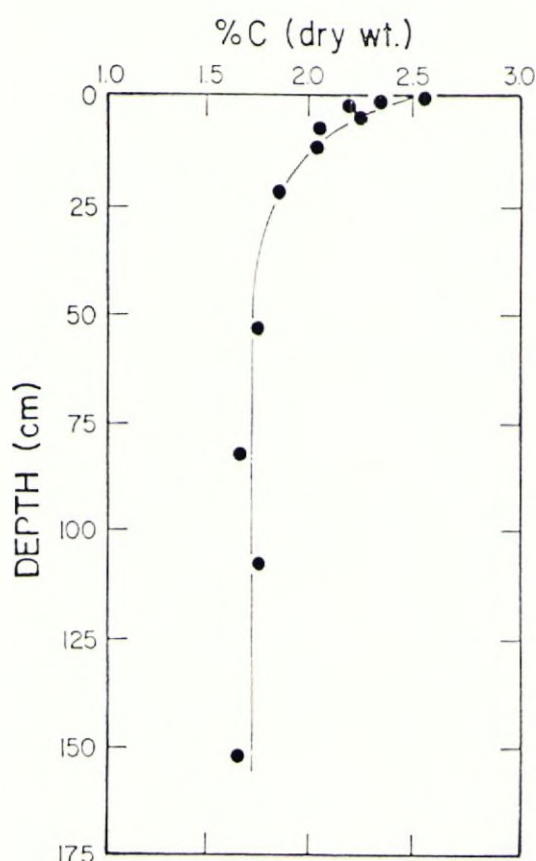


Figura 3.— Distribución del carbono orgánico en función de la profundidad en un testigo de sedimento (Long Island Sound; según BERNER, 1986).

Mayer *et al.*, (1985) han mostrado la existencia de una relación lineal entre la concentración de carbono orgánico de los sedimentos y su superficie específica. El efecto de la granulometría ha sido puesto de manifiesto en numerosas ocasiones posteriores. Esta observación adquiere una especial importancia cuando se constata que esa misma relación para las diversas familias de compuestos orgánicos, aunque los coeficientes de regresión sean peores. Tras la medida de la porosidad, estos autores han constatado que la superficie interior de los poros representa la mayor parte de la superficie específica y que la dimensión media de los poros se situaba alrededor de 20 Å. Este tamaño es muy pequeño, impidiendo el acceso a su interior de las bacterias y de la mayor parte de las exoenzimas que segregan. La materia orgánica que ha podido penetrar en esos poros no es accesible y se encuentra, por tanto, protegida de la degradación.

La existencia de un sobre-almacenamiento de materia orgánica en los sedimentos costeros debe poderse hacer evidente a través del estudio de la relación entre carbono orgánico y superficie específica; en una representación de la primera variable frente a la segunda, todos los puntos deben situarse por encima de la línea que delimita a las muestras para las que la «capacidad oxidante» ha sido agotada mucho antes de que la materia orgánica degradable sea destruida.

CONCLUSION

A pesar de que el ciclo del carbono sea un motivo de preocupación de la mayor parte de los oceanógrafos y se tenga en cuenta en los principales programas de investigación, quedan todavía muchas cuestiones por dilucidar. Los trabajos emprendidos desde hace algunos decenios sobre la degradación de la materia orgánica en los sedimentos han permitido evaluar con precisión la fracción que será fosilizada y los mecanismos globales que influyen sobre los balances. Sin embargo, debido a su complejidad, la zona costera ha sido frecuentemente ignorada, en la consideración de que no podía ser representativa a una escala oceánica mundial. No obstante, debido a su situación, es el único lugar que puede actuar como un colector cuantitativamente importante del exceso de carbono atmosférico.

Los estudios ya realizados, o actualmente en curso, chocan con la falta de información sobre la materia orgánica disuelta que, en lo que se refiere a los aportes de los ríos, supone una cantidad tres veces superior a la materia particulada y más de diez veces cuando se consideran las aguas oceánicas.

La comprensión del ciclo del carbono y la estimación realista de los diversos flujos y sumideros de carbono no pueden ignorar el estudio de la materia orgánica disuelta. Esta constituye, tanto el «stock» principal de la materia orgánica, como la etapa intermedia, inevitable, entre el medio vivo y los detritus y entre los fenómenos de reciclaje y asimilación.

REFERENCIAS:

- BERGER, W.H., FISCHER, K., LAI C. and WU G., 1987. Ocean productivity and oceanic carbon flux. Part I: overview and maps of primary production and export production. Scripps Institution of Oceanography, SIO Ref. 87.30 p. 67.
- DUGDALE, R.C. and GOERING, J.J., 1967. Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol. Oceanogr.*, 12, 196–206.
- HOJO, S., MANGANINI, S.J. and COLE, J.J., 1982. Sedimentation of biogenic matter in the deep ocean. *Deep-Sea Research*, 29, 609–625.
- HUC, A.Y., 1988. Sedimentology of organic matter. In: Humic substances and their role in the environment. F.H. FRIMMEL and R.F. CHRISTMAN (Eds). Dahlem Conf., John Wiley and sons Ltd, pp. 215–243.
- ITTEKKOT, V., 1988. Global trends in the nature of organic matter *Nature*, 332, 436–438.
- KNAUER, G.A., MARTIN, J.H. and BRULAND, K.W., 1979. Fluxes of particulate carbon, nitrogen and phosphorus in the upper water column of the northeast Pacific. *Deep-Sea Research*, 26, 97–108.
- LIKENS, G., 1981. Some perspective of the major biogeochemical cycles. J. Wiley and sons, New York, 175 p.
- LIPIATOU, E., 1989. Contribution à l'étude géochimique des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques dans le delta du Rhône et le golfe du Lion. Thèse Doct., Univ. P.M. Curie, Paris. 195 p.

- LOCHET, F. and LEVEAU, M., 1990. Transfers between a eutrophic ecosystem, the river Rhône, and an oligotrophic ecosystem, the north-western Mediterranean sea. *Hydrobiologia*, 207, 95–103.
- MARTIN, J.H., KNAUER, G.A., KARL, D.M. and BROENKOW, W.W., 1987. Vertex: Carbon cycling in the north east Pacific. *Deep-Sea Research*, 34, 267–285.
- MARTIN, J.M., ELBAZ-POULICHET, F., GUIEU, C., LOYE-PILOT, M.D. and HAN G., 1990. River versus atmosphere input to the Mar. Chem., 28, 159–182.
- MAYER, L.M., RAHAIM, P.T. GUERIN, W., MACKO, S.A., WATLING, L. and ANDERSON, F.E., 1985. Biological and granulometric controls on sedimentary organic matter of an intertidal mudflat. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 20, 491–503.
- MEYBECK, M., 1982. Carbon, nitrogen and phosphorus transported by world's rivers. *Am. J. Sci.*, 401–450.
- MINAS, H.J., M. MINAS, B. COSTE, J. GOSTAN, P. NIOVAL and M.C. BONNIN, 1988. Production de base et de recyclage; une revue de la problématique en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta*, (volume special: Océanographie pélagique méditerranéenne, Ed. H.J. MINAS et P. NIVAL), 155–162.
- MOREL, A., 1989, Production primaire océanique, flux de carbone et de particules. In: *Océanologie, actualité et perspective*. M. DENIS ed., Conférences du symposium international, Marseille Oct. 1989, 338–366.
- NAUDIN, J.J., CAUWET, G., LEVEAU M., LOCHET F., PAUCH H., ROMANO J.C. et SEMPERE R., 1991. Le néphéloïde benthique au large de l'embouchure du Rhône. Transferts particuliers et recyclage biologique à l'interface continent-océan. Submitted to *Oceanol. Acta*.
- OLSON, J.S., GARRELS R.M., BERNER, R.A., ARMENTANO, T.V., DYER, M.I. and YAALON, D.M., 1986. The natural carbon cycle. In: *Atmospheric carbon dioxide and the global carbon cycle*. TRABALKA (Ed). US-DOE/ER000239 Rept., NTIS, Springfield, 175–213.
- SEMPERE, R., CAUWET, G. and RANDON, J., 1991. A new technology for ultra-filtration of seawater: application to the study of colloidal organic carbon distribution in estuarine bottom layer. Submitted to *Marine Chimie*.
- SUESS, E., 1980. Particulate organic carbon flux in the oceans; surface productivity and oxygen utilisation. *Nature*, 288, 260–263.
- WOLLAST, R., 1983. Interactions in estuaries and coastal waters. In: *The major biogeochemical cycles and their interactions*, B. BOLIN and R.B. COOK (Eds), J. Wiley and sons, New York, 385–410.
- WOLLAST, R. and MACKENZIE, F.T., 1989. Global biogeochemical cycles and climates. In: *Climate and geosciences*, A. BERGER, S. SCHNEIDER and J.C. DUPLESSY (Eds), NATO-ASI series, 285, 453–473. Dordrecht. Kluwer Acad. Press.

COMUNICACIONES

ALGUNOS ASPECTOS METODOLOGICOS EN LA MEDIDA DE LOS FLUJOS BENTONICOS A TRAVES DE LA INTERFASE AGUA-SEDIMENTO

A. Gómez-Parra y J. M. Forja**.*

* Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.), 11510 Puerto Real (Cádiz).

**Dpto. de Química Física. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz.
Apdo. 40. Puerto Real (Cádiz).

RESUMEN.

En este trabajo se discuten algunas cuestiones relacionadas con la metodología que se sigue generalmente cuando se emplean cámaras bentónicas para cuantificar los procesos de transferencia de materia a través de la interfase agua-sedimento. Se ha estimado el error que introduce en el cálculo de los flujos bentónicos la dilución que experimenta el agua incubada en la cámara cuando se toman muestras para el análisis de las especies que se difunden y se proponen diversas ecuaciones que permiten su corrección. En relación al tratamiento de los datos experimentales de la variación de la concentración con el tiempo, se cuestiona la práctica habitual de relacionar C y t por medio de una regresión lineal y se propone un modelo que tiene en cuenta la modificación de la estructura de la interfase durante la incubación de las cámaras.

SUMMARY.

Some methodological aspects of benthic chambers to measure the exchange of solutes across the sediment-water interface are discussed. Errors in flux values due to the removal of overlying water during sampling and its replacement with bottom water are measured and corrected using adequate proposed equations. On the other hand, a simple model to calculate «in situ» fluxes using an exponential plot of concentration values inside the chamber vs time, are proposed. This model assumes an alteration of benthic boundary during incubation experiments and suggests that a linear fit to the data is generally not adequate.

INTRODUCCION.

Es una opinión ampliamente compartida que la instalación «in situ» de cámaras bentónicas constituye el mejor procedimiento para la medida de los flujos de nutrientes y gases a través de la interfase agua-sedimento. Frente a otros sistemas, como la incubación de testigos en el laboratorio o la determinación de los gradientes verticales de concentración en el agua intersticial, presentan, como principales ventajas, el que producen una menor alteración de las condiciones naturales del fondo y que tienen en cuenta la participación de los organismos bentónicos en el proceso de regeneración de nutrientes. Esto ha hecho que, desde que fueran utilizadas por primera vez por Rowe *et al.* (1975) para mostrar que la regeneración bentónica de nutrientes era un fenómeno íntimamente relacionado con la productividad de las aguas costeras, su uso se haya generalizado, tanto en ecosistemas someros (e.g.: Callender y Hammond, 1982; Asmus, 1986; Matsukama *et al.*, 1987; Flint, 1985; Hopkinson, 1987) como en distintos lugares del océano (e.g.: Devol, 1987; Florek y Rowe, 1983; Smith *et al.*, 1979).

En todos estos trabajos se han utilizado una gran variedad de cámaras, tanto en lo que respecta a su diseño (tamaño, forma, relación superficie a volumen, material en que se construyeron, etc.) como a la manera en que se llevaron a cabo las incubaciones (duración del fondeo, forma de verificar el anclaje de la cámara en el sedimento, forma de muestrear la cámara, parámetros analizados, manera de realizar la agitación del agua incubada, entre las cuestiones que tienen mayor importancia). Toda esta variedad en el diseño de los equipos y en la metodología seguida hace que la comparación de los datos obtenidos por autores diferentes pueda ser comprometida. A esta dificultad contribuye el hecho de que generalmente el cálculo de los flujos de la especie estudiada se realiza considerando, de manera implícita, que el propio sistema de medida no introduce ninguna alteración en el medio y, también, el que no suelen realizarse correcciones por la retirada de parte del agua incubada al muestrear la cámara.

En este trabajo se analiza la medida en que estas dos últimas cuestiones afectan a los valores de los flujos medidos empleando cámaras bentónicas.

CALCULO DE LOS FLUJOS A TRAVES DE LA INTERFASE AGUA-SEDIMENTO.

La utilización de los datos experimentales de la evolución de la concentración en el interior de la cámara de la especie regenerada para el cálculo de los flujos bentónicos puede hacerse, simplemente, considerando la definición del flujo de materia a través de una superficie:

$$J = \frac{1}{S} \cdot \frac{dm}{dt} = \frac{V}{S} \cdot \frac{(dm/V)}{dt} = \frac{1}{R} \cdot \frac{dC}{dt} \quad [1]$$

donde R es el cociente entre el volumen (V) y la superficie (S) de la cámara y C es la concentración en su interior.

Si J permaneciera constante mientras dura la incubación, se tendría integrando:

$$C = R \cdot J \cdot t + C_0 \quad [2]$$

donde C_0 sería la concentración inicial en la cámara y el valor del flujo se obtendría a partir de la pendiente de la recta de C frente a t . Esta es una práctica habitual en la bibliografía cuando, empíricamente, se encuentra una buena correlación lineal entre ambas variables (e.g.: Edberg y Hofsten, 1973; Callender y Hammond 1982; Doering *et al.*, 1987). No obstante, la existencia de una evolución exponencial de $C(t)$ ha sido encontrada por numerosos autores (e.g.: Hansen *et al.*, 1980; Hopkinson y Wetzel, 1982; Halle *et al.*, 1989; Devol, 1987; Gómez-Parra y Forja, 1990).

FACTORES QUE AFECTAN A LA EVOLUCION DE LA CONCENTRACION EN EL INTERIOR DE LA CAMARA.

Existen al menos dos factores por los que la expresión de $C(t)$ no debe ser lineal. El primero, cuyo tratamiento es relativamente sencillo, es inherente al muestreo que debe necesariamente realizarse dentro de la cámara bentónica y el segundo es consecuencia de la alteración que experimenta el sistema en estudio durante la incubación. El grado en que esta alteración llega a modificar los flujos originales es, cuando menos, muy difícil de establecer.

a) Modificaciones debidas a la toma de muestra.

Esta alteración ha de ser tenida en cuenta cuando el análisis de una sustancia en el interior de la cámara requiere extraer una cierta cantidad del agua incubada. En estos casos se produce la entrada desde el exterior de un volumen de agua equivalente al que se retira. Esta necesidad de muestrear se produce prácticamente siempre ya que, entre los parámetros que tienen interés en el estudio del metabolismo bentónico, sólo el oxígeno disuelto puede determinarse por medio de sensores polarográficos. Algunos autores prefieren evitar la entrada de agua desde el exterior y para ello disponen en alguna parte de la cámara una bolsa flexible que compensa la disminución del volumen. Esto no soluciona el problema, ya que en este caso la ecuación [2] no corresponde a la integración de la ecuación [1] al no ser constante el volumen.

En principio, la concentración de la especie i en el agua que entra en la cámara será distinta a la que tiene en el interior en el instante t . Si la concentración en el exterior no ha variado apreciablemente durante el tiempo de incubación transcurrido, o ha disminuido, el muestreo supone una dilución del agua contenida en la cámara. Ello se traduciría en una curvatura para la representación de C frente a t . En cualquier caso, si se conoce la evolución en el tiempo de la concentración en exterior puede realizarse

una corrección de la concentración medida en el interior de la cámara o, en su caso, el cálculo del error cometido en la estimación de los flujos por este motivo. Para ello debe plantearse un balance de materia referido a la sustancia que se analiza adecuado a la estrategia de muestreo que se siga. Básicamente, el muestreo puede realizarse de dos maneras diferentes: i) en continuo, por ejemplo manteniendo un caudal de aspiración constante por medio de una pequeña bomba, o ii) de manera discreta, esto es, tomando un determinado volumen a intervalos tiempo preestablecidos. En ambos casos la expresión de la concentración corregida, $C(t)$, en función del tiempo quedaría:

$$i) \quad C(t) = C_m(t) + [C(t-1) - C_m(t-1) + C_E(t) \cdot Q \cdot [t - (t-1)] / V_0 \quad [3]$$

$$ii) \quad C(t) = C_m(t) + [C(t) - C(t-1)] + C_E(t) \cdot [V_i(t) - V_i(t-1)] / V_0 \quad [4]$$

donde t es el tiempo en el instante en que se toma la muestra y $(t-1)$ está referido al instante en que se toma la muestra anterior. $C(t)$ y $C_m(t)$ son, respectivamente, las concentraciones corregida y medida en el interior de la cámara en el instante t . $C_E(t)$ es la concentración en el exterior de la cámara en un instante t , Q es el caudal constante de aspiración de muestra, V_0 es el volumen de la cámara y $V_i(t)$ es el volumen de muestra tomado de manera discreta en el instante t .

Cuando ambos sistemas de muestreo se combinan, la expresión de $C(t)$ puede obtenerse combinando las ecuaciones [3] [4]:

$$C(t) = C_m(t) + [C(t-1) - C_m(t-1)] + C_E(t) \cdot Q \cdot [t - (t-1)] + [V_i(t) - V_i(t-1)] / V_0 \quad [5]$$

Todo lo anterior se refiere a una sustancia que se regenera en el sedimento; esto es, se difunde desde el agua intersticial hacia el agua sobrenadante. En el caso contrario, como ocurriría con el oxígeno disuelto, las expresiones para obtendrían de manera similar.

Generalmente estas correcciones no son tenidas en cuenta, ya sea porque requieren el seguimiento de $C_E(t)$ o porque el volumen que se extrae del interior de las cámaras es pequeño. No obstante el ignorarlas puede suponer, en algunos casos, un error apreciable. En la figura 1 se muestra la evolución temporal que experimentaría la concentración de una especie que se difundiera desde el sedimento, para distintos porcentajes de dilución del agua incubada, y el error que se cometería en la determinación del flujo si no se realizan correcciones por dilución. En la figura 1a los puntos indican la concentración medida a lo largo del tiempo en un ensayo de laboratorio en el que se simuló la difusión de un colorante (eosina) con un flujo que decrecía linealmente con el tiempo. Las curvas de variación de la concentración a distintos porcentajes de dilución se generaron por ordenador usando la ecuación 3 (toma de muestra en continuo). La estimación de los flujos para el cálculo del error relativo se realizó a partir de la pendiente de las curvas para $t = 0$.

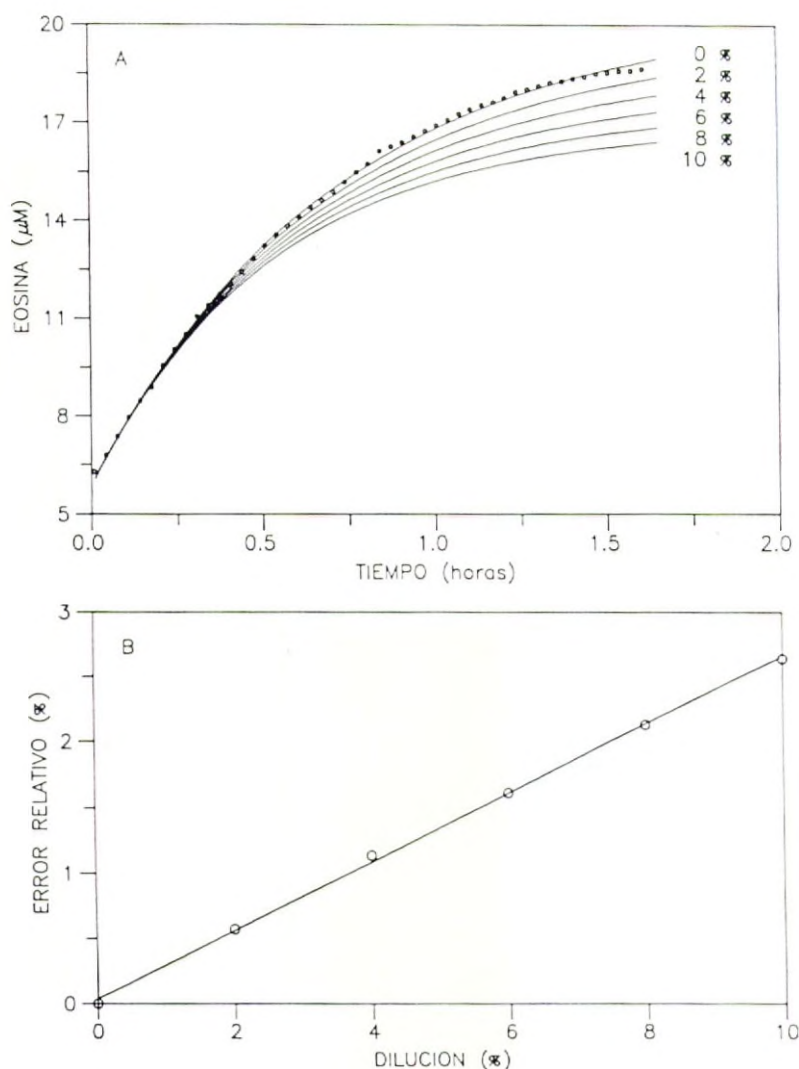


Fig. 1. A) Resultados de los experimentos de simulación para la evolución de la concentración de colorante en el interior de la cámara, para diferentes porcentajes de dilución con agua procedente del exterior. Se superponen los datos experimentales a partir de los cuales se han generado las curvas representadas. B) Error relativo en la determinación del flujo de eosina frente a la dilución del agua incubada provocada por la toma de muestra.

b) Alteración del sistema agua-sedimento durante la incubación.

El aislamiento de una parcela de sedimento y un cierto volumen de agua supone una alteración de las condiciones naturales del medio que afecta al proceso de transferencia de los nutrientes y el oxígeno. En primer lugar, con la acumulación de la

sustancia estudiada en la cámara, que constituye un requisito necesario para poder determinar los flujos, se produce una disminución del gradiente de concentración entre el agua intersticial del sedimento y el agua sobrenadante, que afecta a la difusión de esa especie. Esto induce a pensar que el flujo debe disminuir con el tiempo.

En segundo lugar, durante la incubación, además de una disminución de la tensión de oxígeno en la cámara, puede producirse un aumento de la concentración de determinadas sustancias potencialmente tóxicas para la macrofauna bentónica. Bajo estas circunstancias, la actividad de irrigación que realiza en el sedimento, e incluso su propio metabolismo, pueden verse afectados. Por otra parte, con el emplazamiento de la cámara se modifican las corrientes naturales existentes en ese momento en las proximidades del fondo. Como ha sido puesto de manifiesto por algunos autores (Aller, 1980; Flint y Kamykowski, 1984; Doering *et al.*, 1987; Elderfield *et al.*, 1981), ambas circunstancias afectan decisivamente a la tasa de regeneración bentónica.

MODELO PARA EL CALCULO DE LOS FLUJOS «IN SITU».

La solución del problema planteado, en lo que respecta a considerar la alteración del flujo por la acumulación de nutrientes en el interior de la cámara, requiere disponer de una relación funcional de J con C o t que permita integrar la ecuación [1]. Esto puede hacerse por medio del modelo que se representa en la Figura 2, tanto para un nutriente cualquiera (Fig. 2a), como para el oxígeno (Fig. 2b). La diferencia entre ambos reside únicamente en el signo del flujo.

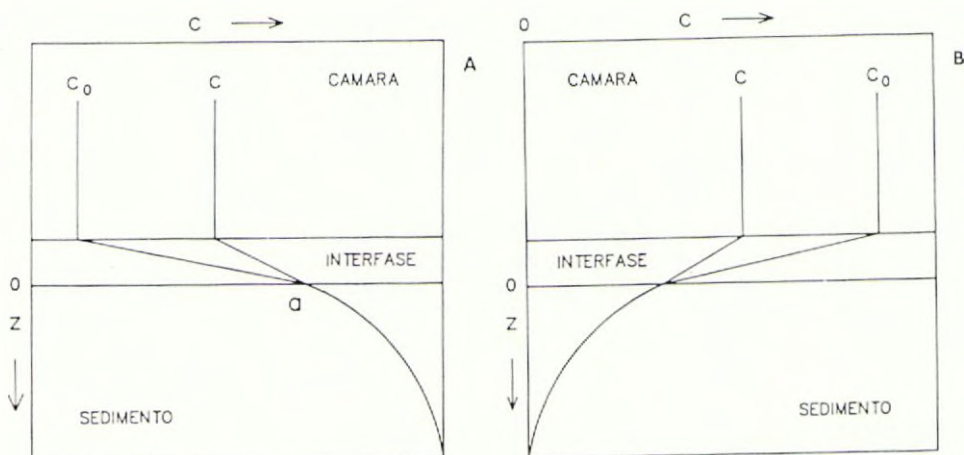


Fig. 2. Representación esquemática del modelo utilizado para el cálculo de los flujos a través de la interfase agua-sedimento de: A) un nutriente y B) el oxígeno.

En esencia, el modelo se basa en admitir que la transferencia de estas especies desde el sedimento al agua sobrenadante, o viceversa, se produce a través de una película estacionada —interfase— de espesor δ_z y que la difusión a través de ella constituye la etapa controlante del proceso global de transferencia de materia.

La existencia de una capa límite con esas características ha sido verificada en testigos de sedimentos estudiados en el laboratorio y, en esas condiciones, se han desarrollado diferentes procedimientos para medir su espesor. Aunque, como han puntualizado Hall *et al.* (1989), no se dispone de ninguna evidencia experimental de que esté presente en condiciones naturales, cabe suponer la existencia de esta capa límite, al menos cuando la velocidad de corriente cerca del fondo, o la alteración provocada por las tormentas o el oleaje, no sea demasiado elevada.

La representación de C en el interior de la cámara en las Figuras 2a y 2b presupone que el sistema de agitación incorporado es lo suficientemente eficaz como para evitar la existencia de una estratificación en el agua incubada, aunque no destruye o altera la interfase. Este punto tiene interés en la estimación de los flujos, ya que, en la medida que se cumpla esta suposición, las muestras analizadas a lo largo del tiempo serán representativas de todo el volumen de la cámara. Esta cuestión, junto con otras relativas al comportamiento del dispositivo experimental, se ha estudiado por medio de técnicas de estímulo—respuesta inyectando un trazador. Los resultados obtenidos, que no se discuten en este trabajo, muestran que, usando cámaras semielípticas y una tasa de recirculación tal que permite simular una corriente en las proximidades del sedimento similar a la que existen en condiciones naturales, ese requisito se cumple.

El modelo propuesto, además de postular la existencia de la interfase, se basa en dos suposiciones adicionales: i) que a través de ella existe, en cualquier instante del muestreo, un gradiente lineal para la concentración de la especie que se difunde, y ii) que la concentración en la capa de sedimento inmediata a la interfase, a, no varía durante el período de tiempo en que permanece fondeada la cámara.

Según esto, la velocidad de transferencia de materia a través de la interfase puede expresarse, de acuerdo con la ley de Fick, como:

$$J = D_s \cdot \varnothing \cdot \frac{dC}{dz} = D_s \cdot \varnothing \cdot \frac{(a - C)}{\delta_z} \quad [6]$$

donde D_s es el coeficiente de difusión de la especie estudiada en la capa límite y \varnothing es la porosidad en esa zona (que generalmente se considera igual a 1).

Igualando las expresiones [1] y [6], resulta:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{R \cdot D_s \cdot \varnothing}{\delta_z} \cdot (a - C) \quad [7]$$

e integrando se tiene

$$C = a - b \cdot \exp(-kt) \quad [8]$$

donde $b = (a - C_0)$ y $k = R \cdot D_s \cdot \varnothing / \delta_z$.

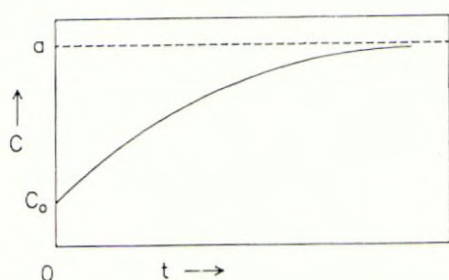


Fig. 3. Representación de la ecuación [8].

La ecuación [8] tiene la forma indicada en la Figura 3 y cumple las condiciones límites, ya que para $t = 0 \Rightarrow C = C_0$, y para $t = \infty \Rightarrow C = a$, el máximo valor de la concentración que, con las suposiciones adoptadas, podría obtenerse en el interior de la cámara.

El flujo de la sustancia i vendrá dado, en cada instante, por:

$$J = \frac{V}{S} \cdot \frac{dC}{dt} = \frac{1}{R} \cdot b \cdot k \cdot \exp(-k \cdot t) \quad [9]$$

Según esta expresión, el flujo bentónico decrecería exponencialmente con el tiempo. Si se desea evaluar el proceso de transferencia sin que el propio sistema de medida produzca una alteración del sistema, debería establecerse el flujo para el instante en que se realiza el emplazamiento de la cámara en el fondo. Así, para $t = 0$,

$$J = b \cdot k / R \quad [10]$$

De esta manera, el valor del flujo se obtendría a partir de las dimensiones de la cámara y los valores de b y k calculados por medio de un ajuste de los datos experimentales a la ecuación [8].

Para una sustancia que se encuentre a mayor concentración en la columna de agua que en el agua intersticial, como es el caso del oxígeno disuelto, se obtendría, de manera análoga, que su concentración en función del tiempo vendría dada por:

$$C = a + b \cdot \exp(-k \cdot t) \quad [11]$$

y el valor del flujo en el instante del fondeo vendría dado por la derivada de [11] a tiempo cero:

$$J = (-k \cdot b) / R \quad [12]$$

Este modelo contempla, por otra parte, el hecho de que en muchos casos la variación de la concentración de nutrientes en la cámara frente al tiempo pueda representarse aceptablemente por medio de un ajuste lineal. Así, se sustituye en [8] el término exponencial por su desarrollo en serie de Mac-Laurin, se tiene:

$$C = a - b + bkt - \frac{b \cdot k^2}{2!} \cdot t^2 + \frac{b \cdot k^3}{3!} \cdot t^3 + \dots + \frac{(-1)^{n+1} \cdot b \cdot k^n}{n!} \cdot t^n + T_n(t) \quad [13]$$

Para valorar pequeños de k , podrían despreciarse los términos en t^2 y superiores, con lo cual C variaría linealmente con t . Desde el punto de vista gráfico, esto equivaldría a asimilar el primer tramo de la curva de la Figura 3 a una línea recta. Si se admite que δ_z y θ no pueden variar apreciablemente, esta circunstancia se produciría cuando D_s o R sean pequeños. Esto es, se apreciaría una evolución lineal de la concentración en la cámara para los iones menos móviles o cuando se utilizan cámaras cuyo volumen sea muy elevado en relación a la superficie de sedimento que cubren. Según esto, la curvatura en la representación de C frente a t sería una prueba, y también una medida, del grado de alteración del medio por el propio sistema experimental. Una solución para reducir esta alteración sería aumentar el volumen de las cámaras. Esto tiene, desde luego, una limitación de orden práctico, ya que pueden llegar a ser poco manejables, y otra que deriva de la necesidad de detectar variaciones de concentración en el interior, que es algo necesario para medir los flujos, en un plazo razonable de tiempo.

VERIFICACION DEL MODELO EN ENSAYOS DE SIMULACION.

La relación que existe entre la variación en el tiempo del flujo a través de la interfase y la evolución de la concentración en el interior de la cámara se ha establecido por medio de ensayos de simulación en el laboratorio. Para ello se ha empleado el dispositivo experimental esquematizado en la Figura 4.

El procedimiento seguido consistió en inyectar un colorante (eosina) de manera que el flujo de esta sustancia desde el sedimento colocado en un tanque experimental pudiera modificarse a lo largo del tiempo de una manera preestablecida. Esto puede conseguirse por medio de dos bombas peristálticas de caudal Q_1 y Q_2 , conectadas a dos recipientes, de volumen V_1 y V_2 , perfectamente agitados, que contienen inicialmente soluciones de eosina de concentración C_1 y $C_2(0)$ (C_1 , lógicamente, permanece constante con el tiempo).

Un balance de materia aplicado al recipiente 2 conduce a

$$C_2 \cdot (dV_2/dt) + V_2 \cdot (dC_2/dt) = C_1 \cdot Q_1 - C_2 \cdot Q_2 \quad [14]$$

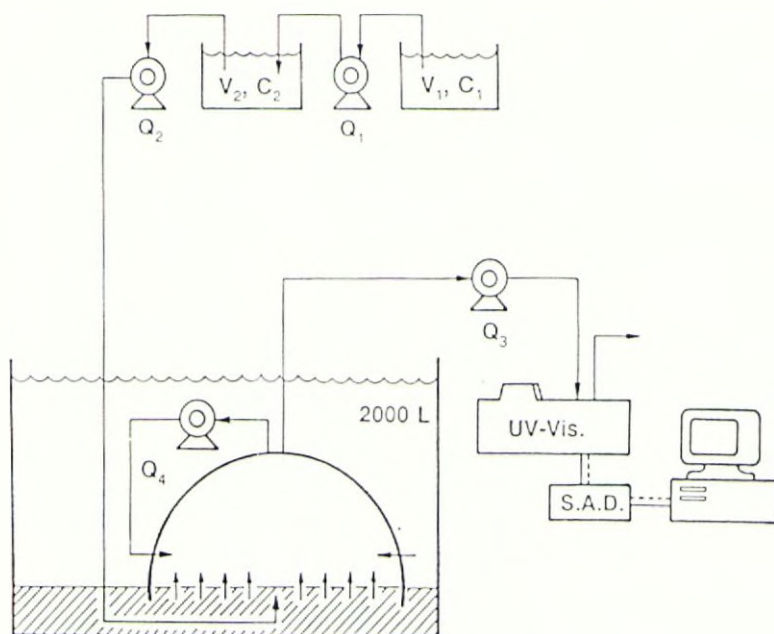


Fig. 4. Dispositivo experimental utilizado en la verificación del modelo propuesto para el cálculo de los flujos bentónicos mediante ensayos de simulación en el laboratorio.

que integrando permite obtener una variación de C con t que puede expresarse como:

$$C_2 = C_1 - [C_1 - C_2(0)] \cdot \left[\frac{V_2(0) + (Q_1 - Q_2) \cdot t}{V_2(0)} \right] \cdot \exp [Q_1 / (Q_1 - Q_2)] \quad [15]$$

La solución de eosina, de concentración C_2 , se introdujo en el sedimento por medio de 32 difusores dispuestos en una plancha de PVC, según se indica en la Figura 5. Todos los difusores se encontraban situados a la misma distancia de la bomba 2 y su efectividad se verificó antes de su empleo. Con ello se intentaba conseguir una difusión uniforme a lo largo de toda la superficie cubierta por la cámara. Una inspección visual, realizada en ensayos previos con cámaras transparentes, mostró que después de unos 10–12 minutos de la inyección de eosina el sedimento mostraba una coloración uniforme. El sedimento empleado estuvo constituido por una capa de 5 cm de arena fina, que fue previamente lavada con HCl y tamizada.

El análisis de la concentración de eosina en el interior de la cámara se realizó midiendo en una cubeta de flujo la absorción del colorante a 419 nm. El muestreo se realizó en continuo usando una bomba peristáltica de caudal $Q_3 = 20 \text{ mL min}^{-1}$. Los datos de absorbancia se procesaron en tiempo real por medio de un microordenador conectado a través de un convertidor analógico–digital al espectrofotómetro (Fig.5).

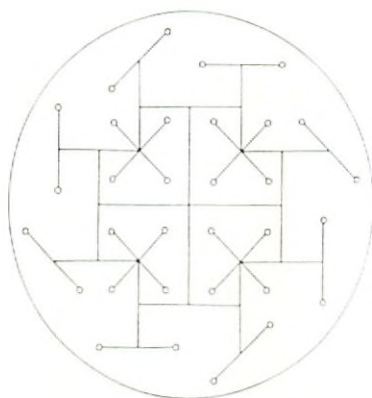


Fig. 5. Esquema de la disposición de los difusores en los experimentos de simulación de flujos. La inyección de colorante se realizó desde el centro.

Dependiendo de los valores relativos de los flujos Q_1 y Q_2 y de las concentraciones C_1 y C_2 , pueden simularse, de acuerdo con la ecuación [15], distintas variaciones temporales del flujo de colorante. Así, para $Q_1 = 0$ se obtiene un flujo constante, mientras que para $Q_2 = Q_1$ y $Q_2 = 2 \cdot Q_1$, el flujo decrece con el tiempo, respectivamente de manera exponencial y lineal.

Las ecuaciones que en cada caso la variación de C_2 con t son:

$$Q_1 = 0, \quad C_2 = C_2(0) \quad [16]$$

$$Q_2 = Q_1, \quad C_2 = C_1 - [C_1 - C_2(0)] \cdot \exp(-Q/V_2 \cdot t) \quad [17]$$

$$Q_2 = 2 \cdot Q_1, \quad C_2 = C_1 - [C_1 - C_2(0)] \cdot [V_2 - V_2(0) + (Q_1 - Q_2) \cdot t] / V_2(0) \quad [18]$$

Debe señalarse que la expresión de la variación exponencial de la concentración no deriva de la ecuación general [15] ya que, en este caso, el balance de masas puede expresarse como.

$$C_2 \cdot [dV_2/dt] + V_2 \cdot [dC_2] = Q_2 \cdot (C_1 - C_2) \quad [19]$$

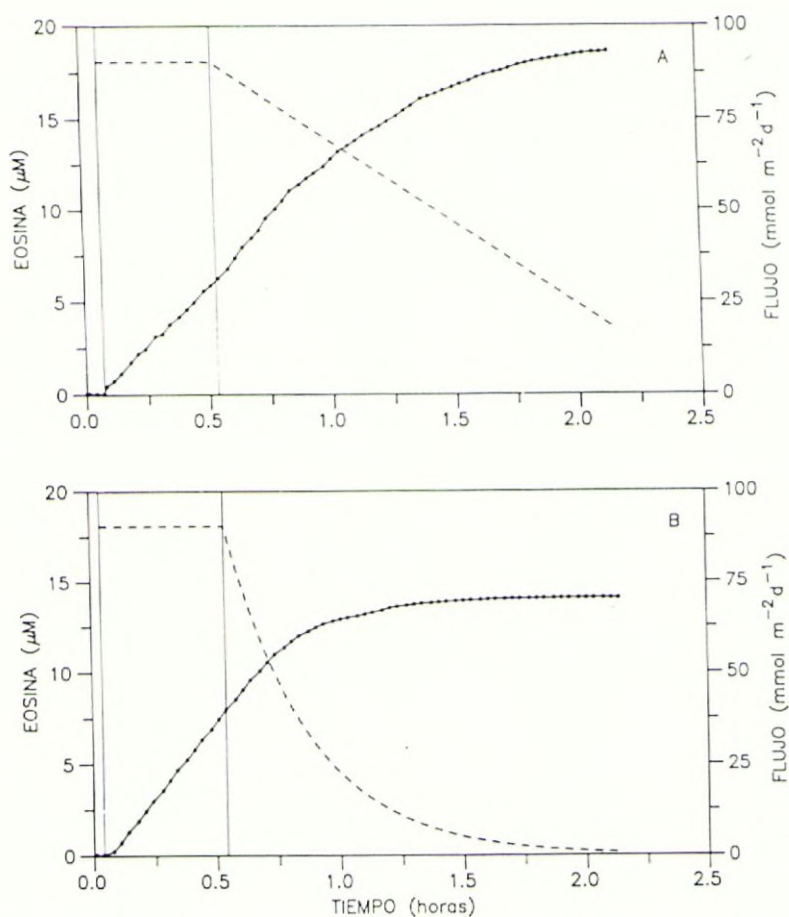


Fig. 6. Evolución de la concentración de colorante en el interior de la cámara en ensayos de simulación de distintos tipos de flujo: A) constante y lineal decreciente, y B) constante y exponencial decreciente. La variación con el tiempo de los flujos inducidos se indican con línea discontinua.

Los resultados obtenidos para la evolución de la concentración del colorante en el interior de la cámara se muestran en la Figura 6. En ella se han indicado también la variación temporal de los flujos. En los dos ensayos realizados se mantuvo inicialmente un flujo durante 30 minutos y, posteriormente, se conectó la bomba 1 con un caudal preestablecido. Los valores de Q_1 , Q_2 , C_1 y C_2 empleados en los ensayos mostrados en la Figura 6 se han recogido en la Tabla I.

TABLA I.

Valores de las concentraciones iniciales, caudales y volúmenes empleados en los ensayos de simulación con eosina, utilizando el equipo experimental descrito en la Fig. 4.

Tipo de flujo	C_1 (g · L ⁻¹)	$C_2(0)$ (mL · min ⁻¹)	Q_1	Q_2	$V_2(0)$
			(mL)		
Constante	—	2	0	10	900
lineal dec.	0	2	5	10	600
exponencial dec.	0	2	10	10	200

Para el caso en que el flujo decrece exponencialmente, se ha encontrado que la concentración de eosina frente al tiempo pueden ajustarse a la ecuación [8] con un coeficiente de correlación superior a 0.999. Durante el período en que el flujo permaneció constante el ajuste de C con t a una línea recta fue, también, excelente.

Los resultados obtenidos permiten suponer una relación causal entre la evolución temporal del flujo y la forma en que varía la concentración de la especie regenerada en el interior de la cámara. Esto, dentro de la imprecisión experimental de los ensayos realizados, supone una validación del modelo. En el apartado siguiente se discute desde un punto de vista más conceptual su verosimilitud, en base a las suposiciones en que se fundamenta.

En la Figura 7 se representan los flujos determinados experimentalmente a partir de las pendientes, a distintos valores de t , de las curvas de la Figura 6 frente al valor teórico dado por los valores de Q_1 , C_i y $V_2(0)$. Puede observarse que ambas magnitudes guardan una buena correlación, si bien las determinaciones, consideradas individualmente, están sujetas a un error apreciable. Esto puede estar motivado por algunos problemas de tipo experimental, entre ellos posibles variaciones en el caudal de las bombas Q_1 y Q_2 y una cierta imprecisión en la asignación de sus caudales. En ese sentido, debe tenerse en cuenta que las representaciones de $J(t)$ en la Figura 6 (líneas discontinuas) corresponde a los valores teóricos obtenidos a partir de la ecuación [15].

Otro posible inconveniente que podría considerarse en la simulación realizada es que la existencia de un flujo de agua desde el sedimento hacia el interior de la cámara, superpuesto al flujo de colorante, podría modificar la estructura de la interfase. Esta posible alteración no ha podido estudiarse experimentalmente midiendo el espesor de la capa estacionaria, a partir del valor de k en la ecuación [8], ya que no se conoce el coeficiente de difusión para la eosina. No obstante, si se considera que la velo-

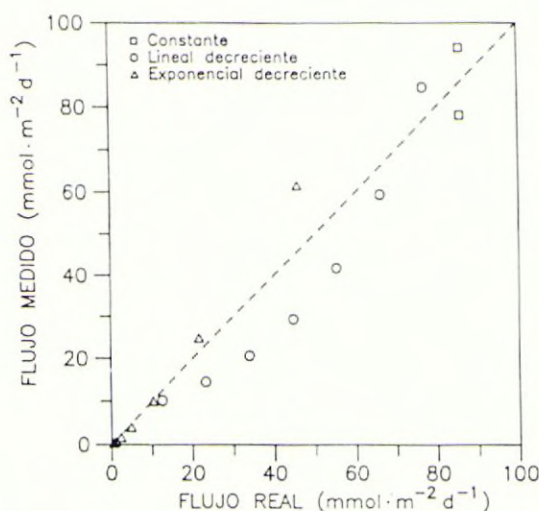


Fig. 7. Valores calculados para los flujos, a partir de la evolución de la concentración de eosina, frente a los valores inducidos por la inyección de colorante.

cidad de ascensión es solo de $5.2 \cdot 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, esta alteración podría ser incluso inferior a la provocada, en condiciones naturales, por la irrigación de algunos de los organismos macrobentónicos.

AMBITO DE APLICACION DEL MODELO PROPUESTO.

La utilidad del modelo expresado por la ecuación [8] para el cálculo de los flujos bentónicos está supeditada al grado de validez que tengan las dos suposiciones en que se basa. La primera, la existencia de un gradiente lineal de concentración en la interfase y su permanencia a lo largo del período de incubación, no parece cuestionable. Este es el tratamiento que habitualmente se realiza para el estudio de procesos de transferencia de materia similares a éste y los resultados que se obtienen son, generalmente, satisfactorios.

La segunda hipótesis, la constancia de la concentración de la especie que se difunde en el agua intersticial para $z = 0$ a lo largo del fondeo ($a = \text{cte}$), requiere algunas matizaciones.

En rigor, si se considera que la velocidad de producción de un nutriente N en el sedimento, R , se mantiene constante durante el período que la cámara permanece fondeada, una disminución en el tiempo del flujo a través de la interfase debe traducirse en una acumulación de ese nutriente en el agua intersticial. Con ello debe producirse, necesariamente, un aumento de « a » durante el fondeo, por lo que el modelo no describe exactamente las condiciones reales en las que se desarrolla el proceso de transferencia de nutrientes durante la incubación del sedimento.

La medida en que el modelo se separa de la situación real es función de la diferencia entre $a(t)_{t=0}$ y C_0 y de la cuantía del aumento de C en el interior de la cámara.

El primero de estos factores depende del lugar muestreado, en lo que respecta a la naturaleza del sedimento, el aporte de materia orgánica que recibe y sus condiciones climáticas. En definitiva, de todo aquello que afecta a la velocidad de producción del nutriente en el sedimento (R) y, con ello, a $a(t)_{t=0}$.

El segundo factor depende del grado de adaptación de la forma en que se realiza la medida «in situ» de los flujos al lugar que se estudia. Fijado el valor mínimo del aumento de concentración en el interior de la cámara que debe conseguirse, que viene impuesto principalmente por la precisión del método usado en el análisis de las muestras procedentes de la cámara, la cuantía de ese aumento de C viene dada por dos factores: i) la relación entre la superficie que cubre la cámara y el volumen de agua que incuba y ii) la duración del fondeo.

En el supuesto de que se disponga de una cámara adecuada y ésta se emplee correctamente, la utilización de la ecuación [8] para el ajuste de los datos experimentales requiere que $a(t)_{t=0} \gg C_0$; o, de manera más general, que $a(t_i) \gg C(t_i)$.

El verificar esta cuestión implicaría conocer a para $t=0$ (instancia en el que se realiza el fondeo de la cámara) y comparado con C_0 . Sin embargo, los análisis de agua intersticial suelen hacerse a partir de testigos cuyo diámetro, por cuestiones de operatividad, suele ser reducido (3-8 cm). En los sistemas litorales, la extrapolación del valor de «a» obtenido con uno o dos testigos aproximadamente 87.10^{-3} m^2 a una superficie de 0.385 m^2 , como la que cubre la cámara empleada en este trabajo, puede ser comprometida.

UNA POSIBLE EXTENSION DEL MODELO.

El considerar para el cálculo de los flujos que a_0 puede variar, supone una ampliación del modelo anterior que puede ser descrita por el esquema de la figura 8. En ella se ha considerado que a_0 es una función del tiempo y que el gradiente a través de la interfase varía, también con el tiempo. De igual manera, se ha supuesto que el perfil de concentración en la columna de sedimento de la especie considerada se modifica durante el fondeo, hasta una cierta profundidad (L). el asignar un valor a esta profundidad es algo arbitrario, aunque debe de estar relacionada con aquella en la que la velocidad de producción R sea suficientemente pequeña (R decrece exponencialmente con z). De acuerdo con Aller (1980) esta profundidad es variable, dependiendo del lugar y la estación climática que se considere, aunque puede ser del orden de una decena de centímetros. Este espesor coincide, por otra parte, con la zona de «bioturbación», en las que los coeficientes aparentes de difusión inducidos por esta actividad de macrofauna pueden experimentar un incremento de hasta un orden de magnitud (Goldhaber et al., 1987; Klump y Martens, 1989).

La obtención de la ecuación que relacione la evolución de la concentración de la especie considerada en el interior de la cámara con el tiempo, requiere la integración de la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{R \cdot D_s}{\delta_z} (a_0 - C) \quad [20]$$

donde $C = C(t)$ y $a_0 = a_0(t)$.

La obtención de la función $C(t)$ requiere conocer la forma en que a_0 varía con el tiempo, o con la concentración, en el interior de la cámara.

En definitiva se necesita poder relacionar la acumulación de nutriente en la cámara durante el fondeo con la que se produce en la interfase y en la columna de sedimento hasta la profundidad L (área sombreada en la Fig. 8) durante ese mismo período de tiempo. Ello implica conocer $a_0(z)$ y $R(z)$ o, al menos, realizar alguna suposición sobre su forma y considerar un valor de R , para la temperatura de trabajo, de entre los que se han citado en la bibliografía. El esquema de la Fig. 8 presupone, de hecho, una forma exponencial para ambas funciones.

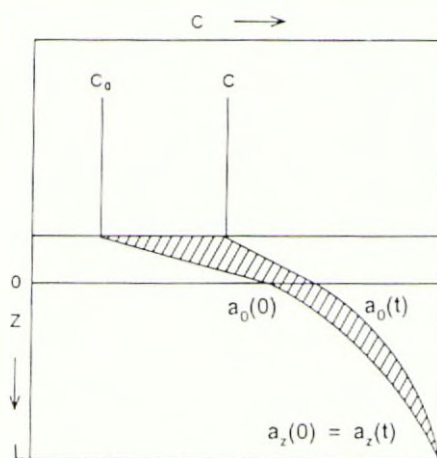


Fig. 8. Modificación del gradiente de concentración de un nutriente a través de la interfase cuando a_0 no permanece constante (ver texto).

Un tratamiento similar al que se plantea sólo ha sido realizado por Hall *et al.* (1989) para el consumo de oxígeno cuya penetración en el sedimento es de sólo unos milímetros. Además, en su trabajo, se basan en considerar un estado estacionario para la distribución de oxígeno en el agua intersticial durante una incubación de varios días.

El modelo expresado por la expresión [20] contempla como caso particular al de la ecuación [8], cuando la variación de a_0 sea pequeña. Esto ocurre cuando a_0 es grande y las variaciones de concentración en el interior de la cámara no sean muy elevadas. Estas son, precisamente, las condiciones que se indicaban en el apartado anterior para poder aplicar ese modelo.

Generalmente, en los sistemas litorales la concentración de nutrientes en el agua intersticial suele ser sensiblemente mayor que en el agua próxima al fondo; a veces hasta en dos órdenes de magnitud. Esto hace que los datos experimentales obtenidos en zonas como la bahía de Cádiz se ajusten bien a la ecuación [8].

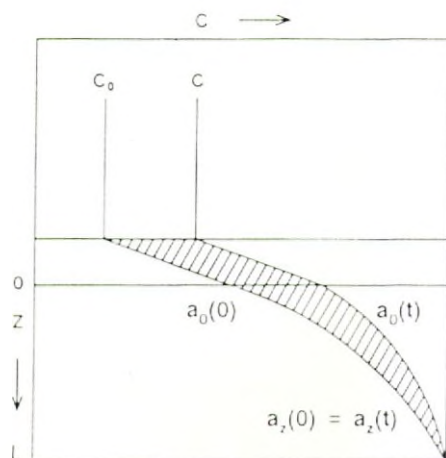


Fig. 9. Un caso particular de la situación mostrada en la Fig. 8, que conduciría a un flujo constante.

Por otra parte, la ecuación [19] contempla la posibilidad de obtener una variación lineal con el tiempo de la concentración en el interior de la cámara, a pesar de que se produzca una importante alteración del sistema durante el fondeo. Esta situación, posible teóricamente, se ha representado en la figura 9, en la que se supone que el gradiente a través de la interfase permanece constante durante el fondeo. Esto supone una seria matización a lo expuesto al modelo inicialmente propuesto.

REFERENCIAS.

- ALLER, R.C.-1980. Diagenetic processes near the sediment-water interface of long Island Sound. I. Decomposition and nutrient element geochemistry (S, N, P). *Advances in Geophysics*, **22**: 237-350.
- ASMUS, R.-1986. Nutrient flux in short-term enclosures of intertidal sand communities. *Ophelia*, **26**: 1-18.
- CALLENDER, E. y HAMMOND, D.E.-1982. Nutrient exchange across the sediment-water interface in the Potomac river estuary. *Estuarine Coast. Shelf Sci.*, **15**: 395-413.

- DEVOL, A.H.-1987. Verification of flux measurements made with *in situ* benthic chambers. *Deep-Sea Res.*, **34**:1007-1026.
- DOERING, P.H., KELLY, J.R., OVIATT, C.A. y SOWERS, T.-1987. Effect of the hard clam *Mercenaria mercenaria* on benthic fluxes of inorganic nutrients and gases. *Marine Biology*, **94**: 377-383.
- EDBERG, N. y HOFSTEN, B. VON-1973. Oxygen uptake of botton sediments studied *in situ* an in the laboratory. *Water Research Pergamon Press*, **7**: 1285-1294.
- ELDERFIELD, J., LUETDTKE, N., MCCAFFREY, R.J. y BENDER, M.-1981. Benthic fluxes in Narranganset Bay. *Am. J. Sci.*, **281**: 768-787.
- FLINT, R.W.-1985. Coastal ecosystem dynamics: relevance of benthic processes. *Mar. Chem.*, **16**: 351-367.
- FLINT, R.W. y KAMYKOWSKY, D.- 1984. Benthic nutrient regeneration in South Texas coastal waters. *Estuarine Coast. Shelf Sci.*, **18**: 221-230.
- FLOREK, R.J. y ROWE, G.T.-1983. Oxygen consumption and dissolved inorganic nutrient production in marine coastal and shelf sediments of the middle Atlantic bight. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, **68(1)**: 73-112.
- GOLDHABER, M.B., ALLER, R.C., COCHRAN, J.K., ROSENFELD, J.K. MARTENS, C.S. y BERNER, R.A.-1977. Sulfate reduction, diffusion, and bioturbation in Long Island Sound sediments: Report of the FOAM group. *Am. J. Sci.*, **277**: 193-237.
- GOMEZ-PARRA, A. y FORJA J.M.-1990. Significance of benthic regeneration in nutrient balance in the bay of Cadiz, SW Spain (a shallow semi-closed ecosystem). *Proceedings of Marine Coastal Eutrophication (International Conference)*, pp. 97. Bolonia (Italia).
- HALL, P.O.J., ANDERSON, L.G. RUTGERS VAN DER LOEFF, M.M., SUNDBY, B. y WESTERLUND, S.F.G.-1989. Oxygen uptake kinetics in the benthic boundary layer. *Limnol. Oceanogr.*, **34(4)**: 734-746.
- HANSEN, H.P., GRASSHOLFF, K. y PETERSEN, J.-1980. In-situ registration of oxygen utilization at sediment-water interfaces. *Marine Chemistry*, **10**: 47-54.
- HOPKINSON, C.S.-1987. Nutrient regeneration in shallow-water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA. *Mar. Biol.*, **94**: 127-142.
- HOPKINSON, C.S. Y WETZEL, R.L.-1982. *In situ* measurements of nutrient and oxygen fluxes in a coastal marine benthic community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10**: 29-35.
- KLUMP, J.V. y MARTENS, C.S.-1989. The seasonality of nutrient regeneration in an organic-rich coastal sediments: Kinetic modeling of changing pore-water nutrient and sulfate distributions. *Limnol. Oceanogr.*, **34(3)**: 559-577.
- MATSUKAWA, Y., SATO, Y. y SASAKI, K.-1987. Benthic flux of nutrient on an intertidal flat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53(6)**: 985-989.

- ROWE, G.T., CLIFFORD, C.H., SMITH, K.L. y HAMILTON, P.L.-1975. Benthic nutrient regeneration and its coupling to primary productivity in coastal waters. *Nature*, **255**: 215-217.
- SMITH, K.L., WHITE, G.A. y LAVER, M.B.-1979. Oxygen uptake and nutrient exchange of sediments measured in situ using a free vehicle grab respirometer. *Deep-Sea Research*, **26A**: 337-346.

VARIACION ANUAL DE LOS APORTES DE SILICATO DISUELTO A LA RIA DE VIGO

Prego, R. y Fraga, F.

I.I. Marinas. CSIC. Eduardo Cabello, 6. 36208 VIGO.

RESUMEN.

El flujo de silicato en el agua dulce es alto en el invierno, 16 mol/s, y es exportado al océano. En primavera y verano decrece siendo el Agua Central NortAtlántica la principal fuente de silicatos, hasta un 70% mientras que la redisolución aporta el 27%. El agua saliente es pobre en silicato, sobre 1 mol/s.

La desaparición media de silicato durante 1986 fue de 2 mol/s, incrementándose en momentos de afloramiento. La relación N:Si, 0,9 en invierno y primavera, permite estimar que los dinoflagelados en el verano consumen un 65% del nitrógeno inorgánico utilizado por el fitoplancton. Esta proporción se reduce al 31% si hay afloramiento.

SUMMARY:

Annual variation of the dissolved silicate contributions to Ría of Vigo.

The silicate freshwater flux is high in winter, 16 mol/s, and it is exported to ocean. This flux decreases in winter and summer and the North Atlantic Central Water is the principal flux of silicates, a 70% of total. The redissolution causes the 27%. The outlet seawater of the Ría is poor in silicate, about 1 mol/s.

The average disappearance of silicate during 1986 was 2 mol/s, but increase if there is upwelling. The N:Si relation, 0.9 in winter and spring, permit to estimate that dinoflagellates use the 65% of inorganic nitrogen consumed by phytoplankton. This proportion is reduced to 31%, if there is upwelling.

INTRODUCCION.

En las Rías Bajas Gallegas las sales nutrientes tienen una gran variación en el agua superficial y la oscilación estacional que presentan es normal en cualquier mar de la zona templada.

Corrientemente se considera a los nitratos como sal nutriente tipo en las descripciones hidrográficas, por esta causa ha sido ampliamente estudiada para la Ría de Vigo, figura 1, la variación de los nitratos (Mouriño *et al.*, 1984) o de otras formas en que se presenta el nitrógeno (Fraga, 1967; Prego, 1990).

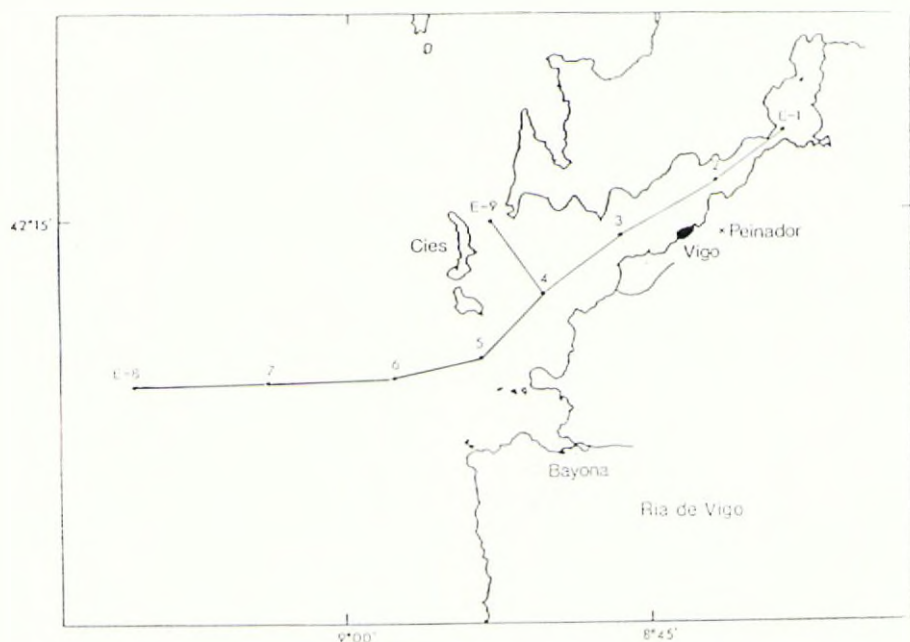


Figura 1.- La ría de Vigo está situada en el noroeste de la península Ibérica. Es la más meridional de las cuatro rías Bajas que se adentran en la costa de Galicia según un eje, aproximado, de suroeste a noreste. En largo es la mayor de las cuatro con 33 Km, en área la segunda con 176 Km² y en capacidad la tercera con 3,117 Km³ de agua. Tiene una profundidad media de 21 m.

El silicato disuelto, necesario para formar la estructura extracelular de las diatomeas, no ha sido considerado tradicionalmente en las descripciones hidrográficas de la Ría de Vigo, figura 1. Solo se utilizaron los datos obtenidos el 30 de mayo de 1983 en la ensenada de San Simón para estudiar su influencia como efluente terrestre a la Ría (Pérez *et al.*, 1988).

En las Rías Bajas el silicato ha sido considerado únicamente en la Ría de Arosa (Cabanias *et al.*, 1984), donde se buscó su interrelación con otros parámetros oceanográficos en las distintas épocas del año. Se obtuvo una distribución errática en primavera y verano, mientras que en invierno presentó los valores más altos en la zona interna de esa Ría debido precisamente a los aportes terrestres.

En el presente trabajo se aborda en tema del silicio como sal nutriente en la Ría de Vigo, cuantificando sus fuentes: agua dulce, agua oceánica o remineralización, así como su importancia cara a la producción primaria.

MATERIAL Y METODO.

Planteamiento del balance.

La ría de Vigo es de tipo B (Beer, 1983), que corresponde al caso más común del estuario: el agua en la ría presenta dos partes, una inferior más salina y otra superior menos, con una mezcla vertical entre ambas. Esto permite considerar a la Ría como una «caja» con la pared de separación situada en su Boca (Prego *et al.*, 1990).

Las corrientes residuales estuáricas, figura 2, permiten definir dos «capas» en la caja que es considerada la ría de Vigo: una capa inferior a la que llega agua desde la plataforma, la cual transporta un flujo de silicato disuelto «Fe»; y otra superior desde donde se exporta agua a la plataforma con un flujo de silicato disuelto «Fs», figura 2.

La superficie de separación entre las corrientes entrante y saliente y es atravesada por otros dos flujos, uno ascendente «Fa» y otro descendente «Fd», figura 2. El flujo de silicato disuelto que se vierte a la Ría en el agua dulce es significado por «Fr».

De acuerdo con lo anterior, en la ría de Vigo, considerada como una caja única, se plantean dos balances, uno por capa:

$$\begin{array}{rclcl} F_s - & F_d + & F_a + & F_r & = B_s \\ F_e + & F_d - & F_a & & = B_i \end{array}$$

El balance de los flujos entrantes y salientes de silicato disuelto en una capa dan lugar a B_s , si es la superior y a B_i , si es la inferior. El balance B_s o B_i sería igual a cero si entre los cuerpos de agua solo hubiera procesos físicos pero no serán nulos de existir una transformación de silicio, disuelto o particulado, dentro de la caja, o lo que es igual en la ría de Vigo.

Cálculo de los flujos.

Un flujo se puede considerar como el producto de un caudal por su concentración media de silicato disuelto, de manera que conociendo ambos se cuantifican los valores de F_r , F_e , F_s , F_a y F_d , figura 2.

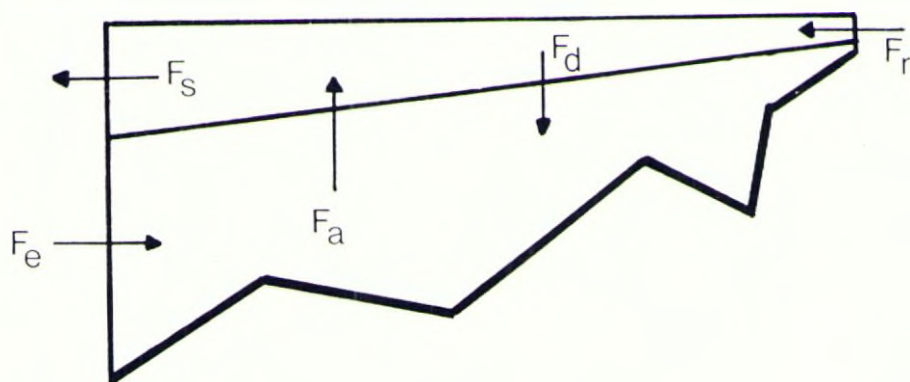


Figura 2.- La ría de Vigo considerada como una caja única con dos capas permite plantear los siguientes flujos de silicato disuelto:

- Fr..... Flujo en el agua dulce.
- Fe » entrante en el agua oceánica.
- Fs » saliente de la Ría.
- Fa » ascendente a la capa superior.
- Fd » descendente hacia la capa inferior.

El muestreo se realizó en el B/O «García del Cid» desde donde fueron tomadas las muestras de agua en botellas oceanográficas de tipo Niskin. Se escogieron cinco estaciones siguiendo el eje de la Ría y se complementaron, fuera de ella, con otras tres hasta la isóbata de 150 m y una última en la Boca Norte de la Ría, figura 1. Se hicieron ocho secciones desde enero hasta octubre de 1986.

Los valores de los caudales (Prego *et al.*, 1990), necesarios para calcular los flujos, han sido determinados en base a la salinidad (Prego *et al.*, 1989) y al agua dulce vertida a la Ría (Prego *et al.*, 1990).

Los valores medios de silicato disuelto han sido calculados a partir de los determinados en las estaciones citadas (Prego *et al.*, 1989) cuyas isopletras se representan en las figuras 3, 5 y 6 para una sección en cada estación del año. En el método analítico seguido (Hensen y Grasshoff, 1983) las formas monómeras o dímeras del silicato reaccionan con el molibdato de forma que estrictamente solo se determina el silicio mineral «reactivo». Los ortofosfatos a las concentraciones normales en el agua de mar no afectan a la medida, siendo la precisión de $\pm 0,04 \mu\text{mol/Kg}$.

RESULTADOS.

Flujos de silicato disuelto en la ría de Vigo.

Las concentraciones en el agua dulce se consideran según su origen: agua dulce sin contaminar (Pérez *et al.*, 1988: datos de la desembocadura del río Oitavén), agua

de alcantarillado (Alvarez, 1980) y agua del río Lagares (Alvarez, 1980; datos de la desembocadura). La suma de esos valores multiplicados por sus caudales de agua dulce dan lugar a los flujos vertidos a la ría de Vigo que se recogen en el cuadro I. El aporte principal coincide con el río Oitavén durante todo el año, cuyo de silicato nunca es menor de un 60% del total llegado a la Ría.

Los flujos de silicato en las corrientes residuales estuáricas se indican en el cuadro I.

CUADRO I

FLUJOS DE SILICATO DISUELTO EN LA RIA DE VIGO. Las cantidades transportadas en Ría por el agua dulce y el agua oceánica están expresadas en mol/s.

	Ene	Feb	Mar	26 My	31 My	Jul	Sep	Oct
Fr:	5,88	15,83	3,97	1,11	0,63	0,40	0,29	0,44
Fs:	15,00	20,89	3,76	0,45	0,35	0,12	1,92	1,28
Fe:	11,69	7,19	2,35	1,83	3,12	0,82	6,68	2,38
Fa:	16,36	14,26	4,53	2,62	5,51	1,03	16,30	8,04
Fd:	2,32	5,77	1,03	0,10	0,34	0,12	4,23	3,87

Balance de silicato disuelto en la ría de Vigo.

Una vez calculados en el apartado anterior los flujos entrante y saliente, ascendente y descendente, así como el correspondiente al agua dulce, se puede conocer la falta o el exceso de silicato en cada capa. Los resultados se recogen en el cuadro II.

CUADRO II

BALANCE DE SILICATO DISUELTO EN LA RIA DE VIGO. Será «Bs» en la capa superior y «Bi» en la inferior, expresados en mol/s. Durante todo el año ocurre una transformación del silicato disuelto en particulado. El porcentaje medio de redisolución de éste, «R», se halla en torno al 37% anual. Existe la relación de mol/s. Ría = 0,755 mmol/día.m².

	Ene	Feb	Mar	26 My	31 My	Jul	Sep	Oct
Bs:	4,93	3,43	3,73	3,19	5,45	1,19	10,46	3,33
Bi:	-2,36	-1,30	-1,16	-0,70	-2,05	-0,09	-5,39	-1,79
TOTAL	2,5	2,1	2,5	2,4	2,5	1,1	5,1	1,5
R :	49 %	38 %	32 %	38 %	22 %	8 %	51 %	55 %

DISCUSION.

La ría de Vigo, al igual que sucede con un estuario (Aston, 1980), tiene una distribución de silicato disuelto controlada por procesos físicos —mezcla, ascenso de agua de fondo y circulación estuárica además de afloramiento en épocas concretas— a los que se superponen procesos químicos, debidos, sobre todo, a la actividad biológica.

En invierno es muy importante la llegada de silicato a la Ría con el agua dulce y sus concentraciones en el agua de mar son las más altas del año, figura 3. Es el principal aporte de ese elemento a la Ría con valores de hasta 16 mol/s. Esto causa un gran enriquecimiento del pobre, 3 $\mu\text{mol/s}$, agua sub-superficial entrante, figura 3, y una alta exportación de silicato al océano, sobre 18 mol/s, en la intensa circulación estuárica residual (Prego *et al.*, 1990).

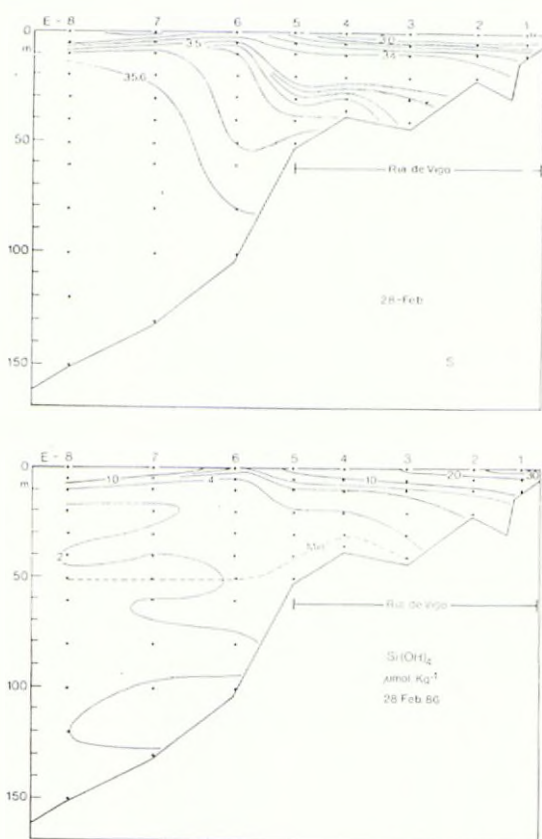


Figura 3.— Mapa de isohalinas (‰) e isopletas del silicato disuelto ($\mu\text{mol/Kg}$) el 28 de febrero de 1986, como ejemplo de la situación invernal en la ría de Vigo (Prego *et al.*, 1989).

Los 2,5 mol/s que pasan a silicio particulado se incorporan en parte al sedimento o bien son arrastrados fuera de la Ría ya que al no determinar silicio biótico no se pueden calcular estos dos valores.

CUADRO III

RELACION N: Si EN LA CAPA SUPERIOR DE LA RÍA DE VIGO. Se refiere al cociente entre el nitrógeno inorgánico consumido en la fotosíntesis y el silicato disuelto que desaparece.

	Ene	Feb	Mar	26 My	31 My	Jul	Sep	Oct
N: Si	0,88	0,09	0,89	0,84	2,56	2,50	1,30	1,30

En la sección efectuada en febrero la fotosíntesis era nula prácticamente al ser muy baja la relación N:Si, cuadro III. La desaparición de un 13% de silicato disuelto aportado por el agua dulce, cuadro II, podría ser menor de haber variaciones en la concentración de silicato, dado el alto caudal de agua dulce vertida a la Ría en esa fecha, 170 m³/s. Algunos autores (Aston, 1980) señalan que el silicato está afectado por procesos inorgánicos de precipitación o adsorción sobre materia particulada como sucede durante el invierno en el estuario del Ems-Dollar, que es retirado un 15% del silicato transportado (Helder y De Vries, 1986). Esto se manifiesta en un decrecimiento de la concentración de silicato en la zona de mezcla de aguas dulces con salinas, en concreto a salinidades inferiores a 15‰ (Morris *et al.*, 1981). Los valores aquí utilizados (Prego *et al.*, 1989) tienen salinidades superiores a la señalada y es necesaria una mayor investigación para confirmar este hecho en la ría de Vigo.

En primavera la disminución del caudal del río reduce a 1 mol/s los aportes de silicatos a la Ría, siendo un 20% del total aportado, cuadro IV. Ello se manifiesta en el diagrama de isopleas para este componente, figura 4. Ahora el silicato es utilizado en la capa superior para la elaboración de los frústulos de las diatomeas. Esto causa que el agua saliente tenga un bajo contenido en silicato: 0,4 mol/s. Esta sal nutriente no llega a agotarse a cero metros, al contrario que el nitrato, y presenta cerca de la superficie un mínimo coincidente con el máximo de clorofila (Prego *et al.*, 1989).

La desaparición de silicato se mantiene en niveles semejantes a los de invierno, cuadro II. Sin embargo la redisolución se incrementa en la zona en el interior de la Ría, figura 4 y sobre la plataforma ya que la corriente residual estuárica arrastra plancton consigo y la sedimentación sucede fuera de la Ría, figura 5. La redisolución proporciona el 27% del silicato que se aporta a la Ría, cuadro IV.

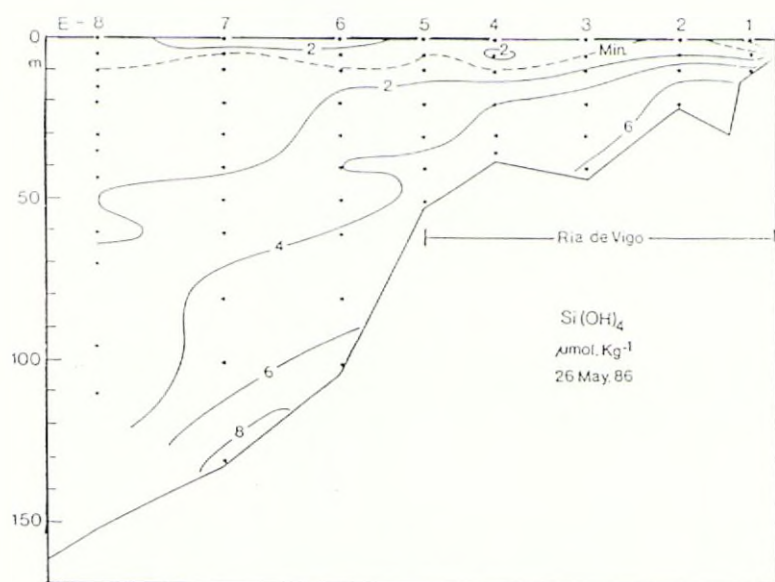
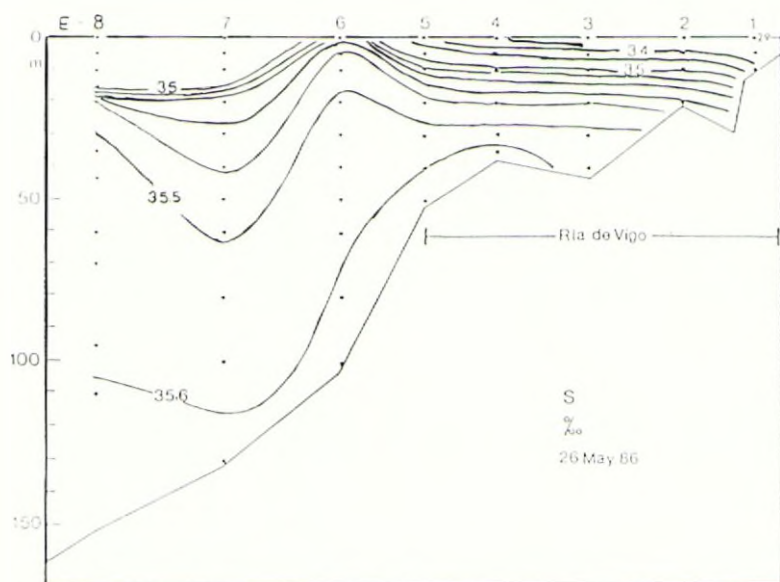


Figura 4.- Mapa de isohalinas (‰) e isoplefas del silicato disuelto ($\mu\text{mol/Kg}$) el 26 de mayo de 1986, como ejemplo de la situación en primavera en la ría de Vigo (Prego et al., 1989).

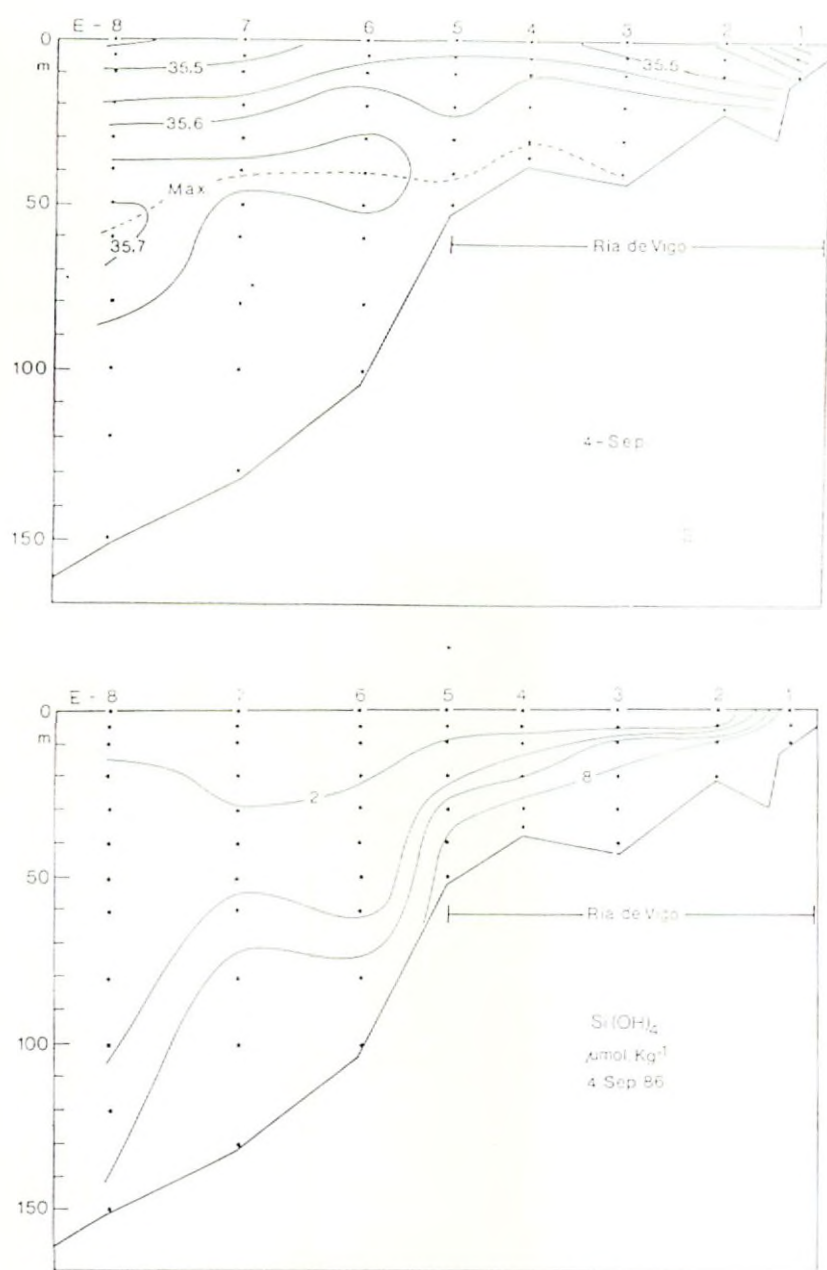


Figura 5.— Mapa de isohalinas (‰) e isopletas del silicato disuelto ($\mu\text{mol/Kg}$) el 4 de septiembre de 1986, como ejemplo de la situación estival en la ría de Vigo (Prego *et al.*, 1989).

En verano la pobre llegada de agua dulce a la Ría hace prácticamente despreciable su influencia en los aportes de silicato, un 3% solo, ya que depende más de las lluvias que de la actividad humana como las otras sales nutrientes. La redisolución es ahora importante como bien marca la isóclina de 8 $\mu\text{mol/Kg}$ dentro de la Ría, figura 5, contribuyendo un 27% al igual que en la primavera.

CUADRO IV

PORCENTAJE DE SILICATO DISUELTO QUE ES APORTADO A LA CAPA SUPERIOR SEGUN SU FUENTE. Excepto en invierno, el agua sub-superficial se puede considerar como ACNA.

	invierno	primavera	verano
Agua dulce	50 %	20 %	3 %
Redisolución	9 %	27 %	27 %
Agua sub-superficial	41 %	53 %	70 %

El afloramiento de ACNA, muy claro por el máximo de salinidad, figura 5, causa una entrada importante de silicato, cerca de 7 mol/s con un fuerte flujo ascendente de éste, 16 mol/s, cuadro IV. El silicato aportado por el Agua Central Nor-Atlántica en verano es el 70% del total, cuadro IV. Igual que en primavera el nitrato llega a agotarse en la zona superficial de la Ría mientras que el silicato mantiene valores próximos a 1 $\mu\text{mol/Kg}$.

La situación de julio, donde el afloramiento es muy poco importante, muestra un gran empobrecimiento en la Ría, cuadro I, con flujos inferiores a 1 mol/s. Lógicamente hay una menor utilización del silicato por las diatomeas y una muy baja redisolución, 8% cuadro II. Lo contrario sucede cuando el afloramiento es más intenso, en septiembre, con flujos entrante y ascendente similares al invierno y que serán utilizados casi totalmente, es decir, de 17 mol/s que llegan a la capa superior solo abandonan la Ría 2 mol/s. Su consumo es el mayor del año, 10 mol/s, y se redisuelve un 50% de éste.

Los valores de utilización de silicato disuelto, salvo el caso de febrero comentado anteriormente, muestran una variación, cuadro II, que se pueden comprender de acuerdo con la variación en la cantidad de materia orgánica. Esta muestra una acusada variación estacional (Vives y Fraga, 1961) con dos máximos: uno en primavera —que incluiría a la sección realizada el 26 de mayo, cuadro II— y otro a finales del verano —septiembre, cuadro II—; y dos mínimos uno en invierno —febrero, cuadro II— y otro poco marcado en verano —julio, cuadro II—.

El silicio, al igual que el carbonato cálcico, interviene solo inorgánicamente al formar parte del esqueleto del plancton. Este elemento parece entrar en los ciclos de sales nutrientes en la misma proporción que el nitrógeno (Richards, 1958) pero es difícil generalizar este resultado debido a la mezcla de fitoplancton con y sin silicio en sus esqueletos. En un reciente trabajo sobre áreas de afloramiento (Levasseur y Therriault, 1987) se comenta que ambos nutrientes pueden consumirse en distinta proporción, de 0,4 a 2,0, pero que 1,0 puede considerarse una buena estimación.

Los consumos de nitrógeno inorgánico en la fotosíntesis en la ría de Vigo (Prego, 1989) permiten calcular la relación N:Si, cuadro III. La muy alta presencia de diatomeas frente a dinoflageladas señalada para invierno y comienzos de primavera en la Ría (Vives y Fraga, 1961) hace estimar un valor de 0,9 para la relación N:Si en diatomeas. De acuerdo con esto, un incremento en la fotosíntesis sin consumo de silicato aumenta la relación N:Si a 2,5, cuadro III, lo que está de acuerdo con el incremento de dinoflageladas (Vives y Fraga, 1961) y la sucesión fitoplanctónica (Margalef *et al.*, 1955). Admitido el valor de 0,9 para diatomeas, la situación citada correspondería a un consumo por los dinoflagelados del 65% del nitrógeno inorgánico utilizando en la fotosíntesis por el fitoplancton de la Ría.

Seguidamente, cuadro III, las condiciones de afloramiento en verano llevan a un nuevo bloom de diatomeas por el aporte de silicato en el ACNA y la remineralización. La relación N:Si disminuye a 1,3 que indica ahora un consumo de nitrógeno del 31% por los dinoflagelados.

BIBLIOGRAFIA:

- ALVAREZ, G. (1980). Calidad de las aguas del río Lagares; 436 pp. Tesis doctoral. Univ. de Santiago de Compostela.
- ASTON, S.R. (1980). Nutrients, dissolved gases, and general biogeochemistry in estuaries. En «Chemistry and Biochemistry of estuaries»: 233-262. Ed. por E. Olausson e I. Cato. John Wiley and Sons.
- BEER, T. (1983). Environmental Oceanography; 262 pp. Pergamon Press. Oxford.
- CABANAS, J.M.; GONZALEZ, N.; GONZALEZ, J.J. y GARCIA-FERNANDEZ, C. (1983). Nutrientes en la ría de Arosa: distribución e interrelación. Bol. Inst. Esp. Oceanog. 1 (1): 72-84.
- FRAGA, F. (1967). Hidrografía de la ría de Vigo, 1962, con especial referencia a los compuestos de nitrógeno. Inv. Pes., 31: 145-159.
- FRAGA, F y VIVES, F. (1961). Florística y sucesión de fitoplancton en la ría de Vigo. Inv. Pesq., 2: 89-129.
- HELDER, W. y DE VRIES, R.T.P. (1986). Dynamics of dissolved silicate and nitrogen nutrients at low temperature in the Ems-Dollard estuary. Neth. J. Sea Res., 20(2-3): 277-284.

- HANSEN, H.P. y GRASSHOFF, K. (1983). Automated chemical analysis. En «Methods of seawater analysis»; (2 ed.): 368-376. Ed. por K. Grasshoff, M. Ehrhardt y K. Kremling. Verlag Chemie. Weinheim.
- LEVASSEUR, M.E. y THERREAULT, J.C. (1987). Phytoplankton biomass and nutrient dynamics in a tidally induced upwelling: the role of the $\text{NO}_3:\text{SiO}_4$ ratio. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 39: 87-97.
- MARGALEF, F.; DURAN, M. y SAIZ, F. (1955). El fitoplancton en la ría de Vigo de enero de 1953 a marzo de 1954. *Inv. Pes.*, 19: 17-36.
- MORRIS, A.W., BALE, A.J. y HOWLAND, R.J.M. (1981). Nutrient Distributions in an Estuary: Evidence of Chemical Precipitation of Dissolved Silicate and Phosphate. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 12: 205-216.
- MOURIÑO, C.; FRAGA, F. y FERNANDEZ PEREZ, F. (1984). Hidrografía de la ría de Vigo. 1979-1980. En «Actas do primeiro Seminario de Ciencias do Mar: As Rías Galegas». Cuadernos da Area de Ciencias Mariñas, 1: 91-103. Ed. do Castro. La Coruña.
- PEREZ, F.F.; MOURIÑO, C. y FRAGA, F. (1988). Influencia de los efluentes terrestres en los nutrientes de la ría de Vigo. En «III Seminario de Química Marina (Cádiz, 28-29 enero, 1986)»: 73-82. Servicio de Publicaciones. Univ. de Cádiz.
- PREGO, R. (1989). Intercambio de sales nutrientes entre cuerpos de agua oceánicos, seguido por métodos químicos. Tesis Doctoral Universidad de Santiago de Compostela.
- PREGO, R.; PEREZ, F.F.; RIOS, A.F.; FRAGA, F. y FIGUEIRAS, F.G. (1989). Datos Hidrográficos de la ría de Vigo: 1986. Datos Informativos, 23; 105 pp.
- PREGO, R. (1990). El nitrógeno orgánico en la ría de Vigo: Distribución y relación con el nitrógeno inorgánico en verano. En «IV Seminario de Química Marina (Cádiz, 28-29 enero, 1988)»: 37-46. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz.
- PREGO, R.; FRAGA, F. y RIOS, A.F. (1990). Water interchange between the ría of Vigo, NW Spain, and the coastal shelf. *Scientia Marina* (en prensa).
- RICHARDS, F.A. (1958). Dissolved silicate and related properties of some western North Atlantic and Caribbean waters. *J. Mar. Res.*, 17: 449-465.
- VIVES, F. y FRAGA, F. (1961). Fluorística y sucesión del fitoplancton en la ría de Vigo. *Inv. Pes.*, 19: 17-36.

PERFILES VERTICALES DE ALCALINIDAD EN EL AGUA INTERSTICIAL DE SEDIMENTOS DE LA BAHIA DE CADIZ

*J. M. Forja**, *M. Arjonilla*** y *A. Gómez-Parra***

* Departamento de Química-Física. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz. 11510 Puerto Real. Cádiz.

** Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). 11510 Puerto Real. Cádiz.

RESUMEN.

Se ha desarrollado una metodología simple para la determinación de la alcalinidad total en el agua intersticial de sedimentos marinos. Consiste en una modificación del método propuesto por Van der Berg y Rogers (1987) y permite la determinación de la alcalinidad en muestras de 2mL. de agua intersticial con una precisión inferior al 0.5%. De forma paralela a la alcalinidad, se ha determinado los perfiles verticales de concentración en el agua intersticial del pH y de la concentración de sulfato, sulfuro, amonio, fosfato, silicato y borato. Teniendo en cuenta la presencia de estos iones, se ha calculado su contribución sobre los valores de la alcalinidad total, que permite una cuantificación de la alcalinidad de carbonato.

A partir de los perfiles verticales, se ha determinado los flujos verticales de la alcalinidad por procesos difusivos en diversas estaciones de la Bahía de Cádiz. Existe una gran variabilidad en los valores de estos flujos, siendo mayores en aquellas zonas que se encuentran sometidas a importantes procesos de degradación de su materia orgánica, como se pone de manifiesto por los elevados valores de la relación entre el carbono orgánico y el nitrógeno orgánico de sus sedimentos.

SUMMARY.

Alkalinity vertical profiles in interstitial waters of sediments from Cádiz bay.

A simple methodology for alkalinity determination of interstitial water of marine sediments has been developed. This modification of the Van der Berg and Rogers (1987) method permits the alkalinity determi-

nations about of 2 mL interstitial water samples with a precision below 0.5%. Vertical profiles in interstitial water of pH, and sulphate, sulphide, ammonium, phosphate, silicate and borate concentrations have been determined in the same cores. In this way, the relative contributions of these ions on total alkalinity values can be calculated.

Taken into account their vertical profiles, diffusive fluxes of alkalinity across sediment-water interface has been determined in different stations of Cadiz bay. There are a great variability of this fluxes. In those zones with important inputs of organic matter, the greatest fluxes have been detected. The alloctonous character of this inputs are related to the high values of organic carbon / nitrogen ratios encountered in their sediments.

INTRODUCCION.

La oxidación de la materia orgánica contenida en los sedimentos puede transcurrir a través de distintas rutas metabólicas, tanto aeróbicas como anaeróbicas, que conducen a la formación de importantes cantidades de CO_2 en el agua intersticial (Froelich *et al.*, 1979). Todos estos procesos hacen que el agua intersticial tenga una composición característica, con unos elevados valores de la alcalinidad y la concentración de nutrientes. Estas especies tienden a difundirse a lo largo de la columna de sedimento, de forma que la mineralización de la materia orgánica es responsable de un intenso intercambio de sustancia a través de la interfase agua-sedimento.

La especiación de los diferentes compuestos de carbono inorgánico en el agua intersticial de sedimentos marinos mediante métodos potenciométricos se encuentra interferida por la presencia de grandes cantidades de otras especies protonables. De esta forma, la determinación de la alcalinidad de carbonato como paso previo para la cuantificación de la concentración de bicarbonato y carbonato, requiere el conocimiento de la concentración de otros iones (e.g.: sulfato, sulfuro, fosfato, amonio, silicato,...) capaces de consumir parte del ácido valorante.

MATERIAL Y METODOS.

Los testigos de sedimento han sido tomados en 7 estaciones de la Bahía de Cádiz, cuya localización se muestra en la figura 1. Los testigos fueron cortados en secciones de 1 cm y centrifugados a 24000 g durante 30 minutos. Por este procedimiento se consigue extraer entre un 60 y un 90% del agua intersticial que contienen, dependiendo de la matriz mineral del sedimento, lo que supone un volumen de muestra de 4-5 ml. Las muestras se conservaron en atmósfera de nitrógeno hasta el momento de su análisis. En las muestras de agua intersticial se ha determinado el pH, la alcalinidad, y la concentración de sulfato, sulfuro, amonio, fosfato, silicato y borato. En el sedimento, una vez seco, molido y tamizado, se ha medido el contenido de carbono y nitrógeno orgánico.

La concentración de nutrientes se ha medido con un autoanalizador Technicon (TRACCS 800) y la de borato mediante el método descrito por Grashoff *et al.* (1983). Para la determinación de la concentración de sulfato se ha utilizado una adaptación del método gravimétrico clásico, usando filtros de microfibras de vidrio (AP40, Milipo-



Figura 1.- Localización de las estaciones de muestreo en la bahía de Cádiz.

re). La concentración de sulfuro se ha determinado potenciométricamente mediante un electrodo selectivo (F1212S, Radiometer).

En la medida del pH y de la alcalinidad se ha empleado un equipo ION-85 (Radiometer) con una precisión de ± 0.1 mV, y electrodos combinados de vidrio Ag/AgCl (GK2401, Radiometer).

Para el carbono orgánico en muestras de sedimento se ha utilizado la técnica descrita por Gaudette *et al.*, (1974) y el nitrógeno total mediante un analizador elemental Carlo Erba (Modelo 1106). Puesto que la mayor parte del nitrógeno inorgánico contenido en el sedimento se extrae durante la centrifugación, en una primera aproximación, los valores obtenidos pueden ser considerados como los contenidos en nitrógeno orgánico.

RESULTADOS Y DISCUSION.

I. ALCALINIDAD EN EL AGUA INTERSTICIAL.

Las medidas de la alcalinidad, tanto en el agua de mar como en el agua intersticial, se han realizado adaptando el método propuesto por Van der Berg y Rogers

(1987). Está basado en las lecturas de de potencial que se obtienen después de añadir dos cantidades prefijadas de HCl 0.1 N. Mediante una linealización de la parte ácida de la curva de valoración utilizando la función de Gran (1952), es posible teóricamente conocer el punto de equivalencia de la valoración con dos adiciones solamente. Obtienen con este método una precisión de $\pm 2 \mu\text{M}$, equivalente a un error relativo de un 0.1%. Wedborg (1988) realiza una crítica de este método, en la que encuentra que el error que se comete es del orden de un 1%. En las condiciones experimentales de trabajo, este error puede disminuirse por debajo de un 0.5% realizando correcciones por dilución de todas las especies que intervienen, correcciones de los valores de los potenciales leídos por la variación del potencial de unión líquida de los electrodos a lo largo de la valoración, y aumentando el número de adiciones de ácido por encima del punto de equivalencia.

La función de Gran que describe la curva de valoración una vez alcanzado el punto de equivalencia tiene la forma:

$$F' = (v_0 + v) \cdot [H^+] \cdot \alpha_{H^+} / C_A \quad [1]$$

donde v_0 es el volumen de muestra y v es el volumen de ácido añadido. $[H^+]$ es la concentración de H^+ libre, α_{H^+} el coeficiente de asociación del H^+ y C_A la concentración del ácido valorante. Aplicando la ecuación de Nerst se obtiene:

$$F' = (v_0 + v) \cdot 10^{E/K} \cdot \alpha_{H^+} \cdot 10^{-E_0/K} / C_A \quad [2]$$

donde E es el potencial leído después de cada adición, E_0 es el potencial aparente del electrodo empleado y $K=2.3 \cdot R \cdot T/F$. Si hacemos en la expresión [3.3],

$$F = (v_0 + v) \cdot 10^{E/K} \cdot \alpha_{H^+} / C_A \quad [3]$$

$$s = 10^{-E_0/K} \quad [4]$$

se obtiene que $F'=F \cdot s$. Si después de dos adiciones de ácido, v_1 y v_2 , los potenciales medidos son E_1 y E_2 , y aplicando la expresión [3],

$$F(1) = (v_0 + v_1) \cdot 10^{E_1/K} \cdot \alpha_{H^+} / C_A \quad [5]$$

$$F(2) = (v_0 + v_1) \cdot 10^{E_2/K} \cdot \alpha_{H^+} / C_A \quad [6]$$

La función F^- varía linealmente con el volumen de ácido añadido una vez que se alcanza el punto final de la valoración. La pendiente de la recta, s , se puede calcular como:

$$s = (v_2 - v_1) / [F(2) - F(1)] \quad [7]$$

y el volumen de ácido necesario para llevar al punto final de valoración (v_e) se puede obtener particularizando la ecuación de la recta para una de las adiciones:

$$v_e = v_1 - F(1) \cdot s \quad [8]$$

La alcalinidad de la muestra (mM) se determina a partir de la expresión,

$$A = v_e \cdot C_A \cdot 10^3 / v_0 \quad [9]$$

En el cálculo de los valores α_{H^-} tras cada adición se ha considerado el efecto de la formación de los pares iónicos, HSO_4^- y HF , de forma que

$$\alpha_{H^-} = 1 + [SO_4^{2-}] \cdot \beta_A / (1 + \beta_A \cdot [H^+]) + [F^-] \cdot \beta_F / (1 + \beta_F \cdot [H^+]) \quad [10]$$

donde $[SO_4^{2-}]$ y $[F^-]$ son las concentraciones medidas de sulfato y fluoruros. Se han utilizado las constantes de asociación para el sulfato (β_A) y fluoruro (β_F) descritas, respectivamente, por Khoo *et al.* (1977) y Pérez y Fraga (1987).

Como la concentración de fluoruro tienen un valor aproximadamente constante en sistemas oceánicos (Skirrow, 1975) y no participa en los principales procesos degradativos de la materia orgánica, se ha tomado el valor usual de $[F^-] = 0.72$ mM para las muestras de agua intersticial.

Las determinaciones del pH y la alcalinidad en el agua intersticial se realizaron sobre alícuotas de 2 mL y se han efectuado entre 5 y 20 adiciones de HCl. El pH inicial se ha determinado en la escala NBS a partir del valor del pH medido (pH_m) y α_{H^-} a la temperatura y salinidad original de las muestras.

$$pH = pH_m - \log \alpha_{H^-} \quad [11]$$

Tanto en las lecturas de pH como de E, se ha agitado suavemente la muestra durante la medida. Se ha estimado que un error de ± 0.2 mV en la lectura de un potencial afecta a la alcalinidad en un 0.1%. El equipo estaba provisto de una sonda de temperatura ($\pm 0.1^\circ$ C).

En la Fig. 2a se muestran, a modo de ejemplo, las curvas típicas de valoración que se obtienen al realizar sucesivas adiciones de 0.01 mL de HCl 0.1 N sobre 2 mL de algunas muestras de agua de mar y agua intersticial. En la Fig. 2b se observa la linealización de la parte ácida de las curvas de valoración al aplicar la función de Gran (ecuación [3]). Una de las modificaciones que se sugieren para hacer más general el método descrito por Van der Berg y Rogers (1987) consiste en hacer un seguimiento del potencial de la muestra a medida que se añade ácido, hasta un potencial cercano a 180 mV (línea discontinua en la Fig. 2a). El volumen total añadido hasta este instante constituiría la 1ª adición de ácido (v_1).

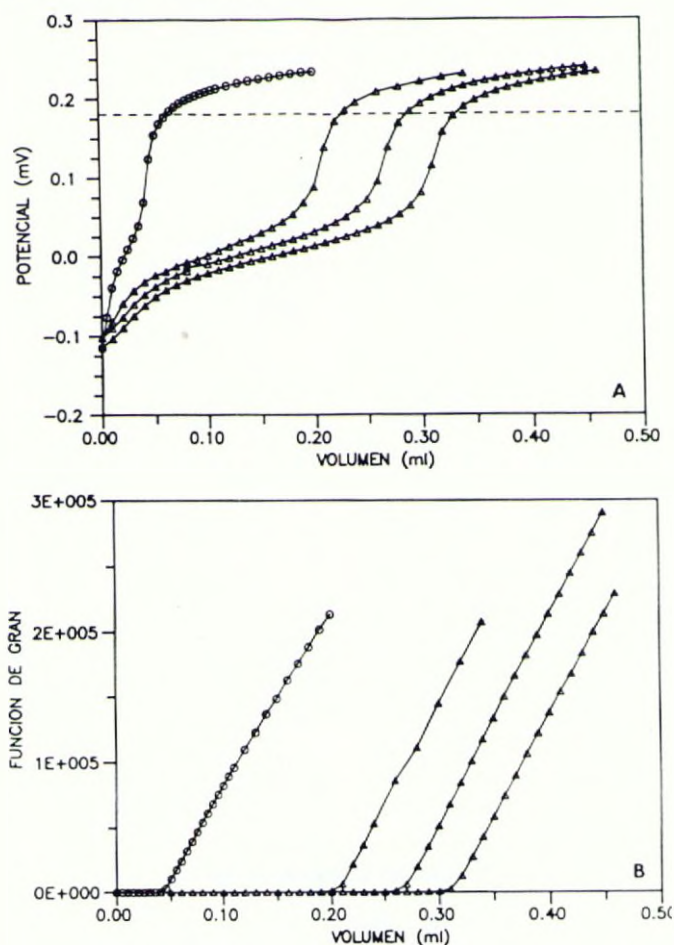


Figura 2.a) Curvas de valoración de 2 ml de agua de mar (O) y agua intersticial (Δ) con HCl 0.1 N. b) Linealización de las curvas de valoración anteriores por medio de la función de Gran.

Puesto que las curvas de valoración se hacen rápidamente asintóticas, la segunda adición puede ser prefijada entre 0.15 y 0.20 mL de HCl 0.1 N, en el caso que se valoren 2 mL de muestra.

Los volúmenes de HCl 0.1 N añadidos por Van der Berg y Rogers (1987) son, para 2 mL de muestra, 0.06 y 0.20 mL. La primera adición es suficiente para sobrepasar el punto de equivalencia de la valoración cuando la alcalinidad es menor a 2.5 mM, como suele ser usual en aguas oceánicas. En la mayor parte de las muestras de agua de mar analizadas en la zona de la Bahía de Cádiz, la alcalinidad es normalmente superior a 2.6 mM (Forja, 1990), y una primera adición de 0.06 mL provocaría, en el mejor de los casos, un potencial en torno a 160 mV, que queda ya en el límite de la parte de la curva de valoración que linealiza la función de Gran. Este hecho puede provocar variaciones de la pendiente de las rectas que describen la variación de la función de Gran con el volumen de ácido añadido y, por lo tanto, determinaciones erróneas de la alcalinidad. En lo que respecta a las muestras de agua intersticial, el punto final de la valoración se obtiene tras añadir cantidades de ácido hasta 5 veces superiores a las previstas por estos autores.

Para un grupo de 10 muestras de distinta naturaleza, agua de mar o agua intersticial, se ha realizado la curva de valoración completa mediante sucesivas adiciones de HCl 0.1 N, con objeto de estimar los errores cometidos por la variación del potencial de unión líquida de los electrodos empleados a medida que disminuye el pH. El potencial estándar aparente está relacionado con el potencial estándar del electrodo (E_0) y el coeficiente de unión líquida (j_H) mediante la expresión:

$$E_0' = E_0 + j_H \cdot [H^+] \quad [12]$$

Una regresión lineal de los valores de E_0' frente a $[H^+]$ permite de la determinación de los valores de E_0 y j_H . Considerando el conjunto de muestras estudiadas, se obtiene unos valores medios de $E_0 = 357.4 \pm 13.7$ mV, y $j_H = -47.7 \pm 14.4$ mV \cdot M⁻¹, con unos coeficientes de correlación de 0.72 ± 0.13 . Este valor medio de j_H puede considerarse normal para muestras de agua de mar (Wedborg, 1988). La variación de E_0 para los intervalos de pH obtenidos entre la 1ª y la última adición de HCl produce, utilizando estos valores medios, un error relativo de $-0.24 \pm 0.10\%$ en la determinación de la alcalinidad.

Este error puede ser minimizado si se corrige el valor potencial obtenido tras la segunda adición de ácido (E_2) por la variación que experimenta el valor de E_0 , de forma que:

$$E_2' = E_2 + j_H \cdot ([H^+]_2 - [H^+]_1) \quad [13]$$

siendo $[H^+]_2 - [H^+]_1$ las concentraciones de H^+ después de cada adición.

Las determinaciones experimentales de la alcalinidad, junto con los valores del pH, permite conocer la concentración de las distintas especies de carbono inorgánico en el agua de mar. Se define la alcalinidad de carbonato como (Skirrow, 1975):

$$A_c = [\text{HCO}_3^-] + 2 [\text{CO}_3^{2-}] = A - [\text{B(OH)}_4^-] - [\text{OH}^-] + [\text{H}^+] \quad [14]$$

Al pH del agua de mar, la concentración de H^+ y OH^- tienen una contribución muy pequeña sobre los valores de la alcalinidad, y suelen eliminarse de la expresión anterior, quedando:

$$A_c = A - K_B \cdot [\text{B}]_m / (K_B + [\text{H}^+]) \quad [15]$$

donde $[\text{B}]_m$ es la concentración de borato medida. Puesto que la concentración de borato en el agua de mar no experimenta grandes variaciones, suele ser una práctica común utilizar valores descritos en la bibliografía. En determinaciones rutinarias de A_c , se ha empleado $[\text{B}]_m = 4.42 \cdot 10^{-4}$ M. K_B es la 1ª constante de disociación del ácido bórico, propuesta por Van der Berg y Rogers (1987). Skirrow (1975) recoge las expresiones que permiten el cálculo de las concentraciones de bicarbonato, carbonato y CO_2 disuelto, en función del pH, y las constantes de disociación del ácido carbónico, K_1 y K_2 .

En el caso de muestras de agua intersticial y debido a la complejidad de su composición, es necesario acudir a una definición más amplia de la alcalinidad que contemple la presencia de otras especies protonables. Dickson (1981) propone, a nivel teórico, una definición exacta de la alcalinidad en el agua de mar:

$$A = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B(OH)}_4^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + 2 [\text{PO}_4^{3-}] + [\text{SiO(OH)}_3^-] + \\ + [\text{HS}^-] + 2 [\text{S}^{2-}] + [\text{NH}_3] - [\text{HSO}_4^-] - [\text{HF}] - \text{H}_3\text{PO}_4 \quad [16]$$

Se ha evaluado la influencia de estas especies sobre las medidas de alcalinidad en dos testigos, que corresponden a las estaciones 1 y 2. Para ello, se han tomado los mejores ajustes lineales, exponenciales o polinómicos de los perfiles del pH y de la concentración de sulfuro, amonio, silicato, fosfato y sulfato. En la figura 3 se muestran algunos de los perfiles verticales de estos parámetros. Puede observarse como la concentración de borato no experimenta importantes variaciones con la profundidad, por lo que se ha tomado un valor medio por testigo.

La concentración de las diferentes formas protonadas de los compuestos que aparecen en la definición anterior (ecuación [16]) se han calculado a partir de las concentraciones medidas y de las distintas constantes de disociación (Spencer, 1975; Khoo *et al.*, 1977; Pérez y Fraga, 1987; Millero *et al.*, 1988).

Puesto que el límite de detección de las determinaciones de la alcalinidad es, en el mejor de los casos, del orden de $\pm 1 \mu\text{M}$, el efecto de la concentración de HSO_4^- , HF y OH^- puede considerarse despreciable, ya que es del orden de $0.025 \mu\text{M}$.

La variación del porcentaje de contribución de los demás compuestos es variable, aunque se observa en ambos testigos una misma tendencia. Si suprimimos en la expresión [14] los términos que están por debajo del límite de detección del método analítico, una definición operativa de la alcalinidad en el agua intersticial de los testigos estudiados podría venir dada por:

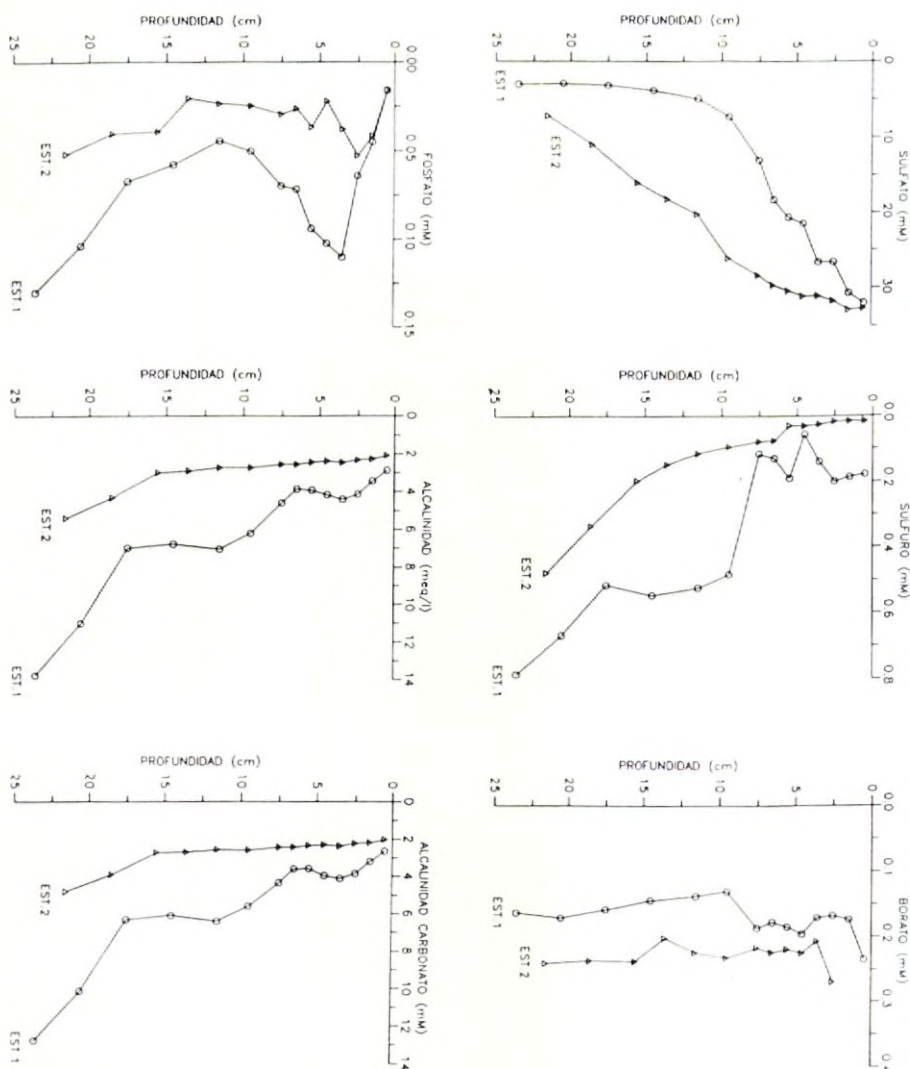


Figura 3.— Perfiles verticales de sulfato, borato, fosfato, alcalinidad y alcalinidad de carbonato en testigos de sedimento de las estaciones 1 y 2.

$$A = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B}(\text{OH})_4^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + 2[\text{PO}_4^{3-}] + [\text{SiO}(\text{OH})_3^-] + [\text{HS}^-] + [\text{NH}_3] \quad [17]$$

Esta expresión permite una determinación relativamente exacta de la alcalinidad de carbonato en el agua intersticial (Fig. 3). La indeterminación del efecto de la concentración de nutrientes y sulfuro puede producir errores de hasta un 15% en los valores de la alcalinidad de carbonato.

II. FLUJOS DE ALCALINIDAD.

En la Fig. 4 se muestran los perfiles verticales de alcalinidad en el agua intersticial de sedimentos de 7 estaciones de la Bahía de Cádiz. Puede observarse la existencia de una gran variabilidad espacial en la forma de estos perfiles verticales. A diferencia de testigos donde estas variaciones son muy suaves (estaciones 2, 4, 5, 6 y 7), se encuentran otros donde existen importantes gradientes verticales (estaciones 1 y 3).

Los flujos de alcalinidad a través de la interfase agua-sedimento se han calculado suponiendo un estado estacionario, por medio de la expresión propuesta por Berner (1976):

$$J = \phi \cdot D_s \cdot dC / dz \big|_{z=0} \quad [17]$$

donde J es el flujo por difusión de la especie estudiada, ϕ es la porosidad media en los 3 cm más superficiales de sedimento y $dC / dz \big|_{z=0}$ es la pendiente del perfil vertical de profundidad cero. D_s es el coeficiente de difusión, que puede calcularse en función de ϕ y el coeficiente de difusión a dilución infinita (D^0) por medio de la relación de Ullman y Aller (1982). Se ha utilizado los valores de D^0 para el HCO_3^- , especie que supone más de un 95% de la alcalinidad de carbonato, a distintas temperaturas propuesto por Li y Gregory (1974).

En la Tabla 1 se muestran los valores de los flujos de alcalinidad, así como los distintos parámetros que intervienen en la ecuación [16]. También se incluye la relación entre el contenido de carbono y nitrógeno orgánico en los 3 primeros centímetros de sedimento. Los valores absolutos de los flujos de alcalinidad en la bahía de Cádiz son menores, hasta en dos órdenes de magnitud, que los obtenidos por medio de medias con cámaras bentónicas (Forja y Gómez-Parra, 1990), lo que pone de manifiesto la influencia de la irrigación de la macrofauna bentónica en los procesos de transporte a través de la interfase. A este respecto, se han registrado densidades superiores a las 1250 organismos $\cdot \text{m}^{-2}$, de los cuales más de un 65% está constituido por poliquetos, que se caracterizan por una elevada capacidad de irrigación (Aller, 1988).

Los valores más elevados se registran en las estaciones 1, 2 y 3, que se caracterizan por los importantes aportes de materia orgánica que reciben. Los elevados valo-

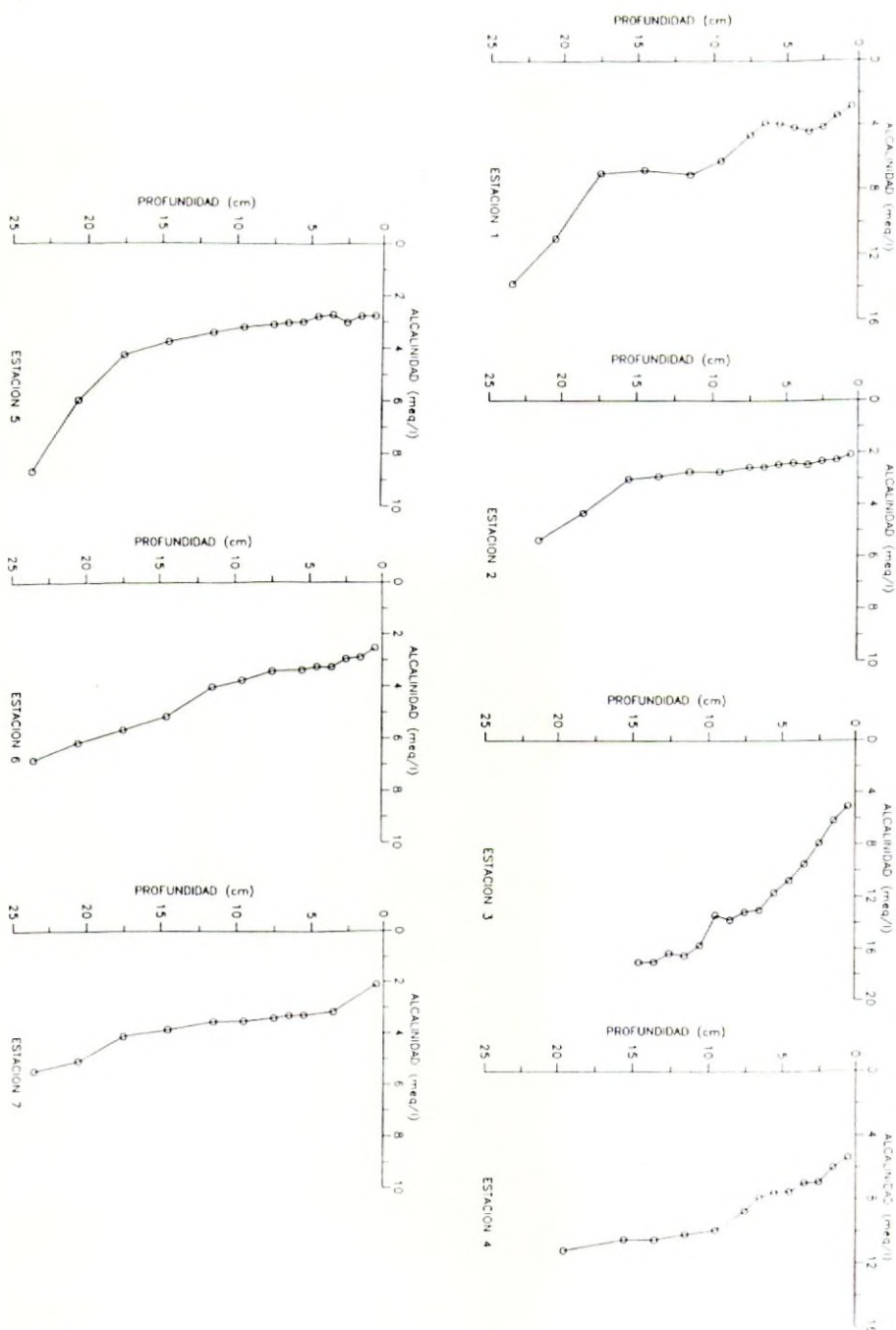


Figura 4.- Perfiles verticales de la alcalinidad total en el agua intersticial de sedimentos en las distintas estaciones de la bahía de Cádiz.

TABLA I.

Valores de porosidad, coeficientes de difusión, gradientes verticales y flujos de alcalinidad en los 3 cm más superficiales de los testigos de sedimentos tomados en la bahía de Cádiz. Se incluye la relación entre el contenido de carbono y nitrógeno orgánico.

Estación	ϕ	$D_s \cdot 10^6$ ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$dC / dz_{z=0}$ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	J ($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	$C_{\text{org}}/N_{\text{org}}$
1	0.745	5.84	0.315	1.18	20.9
2	0.694	5.08	0.054	0.16	14.1
3	0.678	4.83	0.976	2.76	18.0
4	0.613	3.95	0.402	0.84	23.2
5	0.736	5.71	0.091	0.33	14.2
6	0.718	5.43	0.166	0.56	9.7
7	0.690	5.01	0.121	0.36	10.1

res de la relación entre el contenido de carbono orgánico y nitrógeno orgánico en la parte más superficial de sus sedimentos ponen de manifiesto el origen alóctono de estos aportes. Para las demás estaciones, que presentan unos flujos de alcalinidad menores, la relación carbono orgánico/nitrógeno orgánico es, en todos los casos, superior a la propuesta por Redfield (1963) para la constitución del plancton marino. Esta circunstancia refleja el carácter receptor de materia orgánica de la bahía de Cádiz, que recoge los vertidos urbanos de una población superior a los 600.000 habitantes.

BIBLIOGRAFIA:

- ALLER, R.C.-1988. Benthic fauna and biochemical processes in marine sediments: the role of borrow structures. En: *Nitrogen Cycling in Coastal Marine Environment* (T.H. Blackburn y J. Sorensen, eds). Jhon Willey & Sons, Londres. pp. 301-338.
- BERNER, R.A.-1976. Inclusion of adsorption in the modeling of early diagenesis. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **29**: 333-340.
- FORJA, J.M.-1990. *Regeneración bentónica de nutrientes en la Bahía de Cádiz*. Tesis Doctoral, Univ. Cádiz, 381 pp.

- FORJA, J.M. y GOMEZ-PARRA, A.-1990. Relationships between oxygen and alkalinity benthic fluxes at Cádiz Bay (S.W. Spain). *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, **32**, 1 (1990).
- FROELICH, P.N., KLINKHAMMER, G.P., BENDER, M.L., LUEDTKE, N.A., HEATH, G.R., CULLEN, D., DAUPHIN, P., HAMMOND, D., HARTMAN, B. Y MAYNARD, V.-1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of eastern equatorial Atlantic: Suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **43**: 1075-1090.
- GRAN, G.-1952. Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. Part II. *Analyst*, **77**: 661-671.
- GRASSHOFF, K., Ehrhardt, M. y Krenling, K.-1983. *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, R.F.A. 419 pp.
- KHOO, K.H., RAMETTE, R.W., CULBERSON, C.H. Y BATES, R.G.-1977. Determination of hydrogen ion concentrations in seawater from 5 to 40° C: standard potentials at salinities from 20 to 45‰. *Anal. Chem.*, **49**: 29-34.
- LI, Y.H. Y GREGORY, S.-1974. Diffusion of ions in seawater and in deep sea sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **40**: 257-266.
- MILLERO, F.J. PLESE, T. Y FERNANDEZ, M.-1988. The dissociation of hydrogen sulfide in seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **33**(2): 269-274.
- PEREZ, F.F. Y FRAGA, F.-1987. Association constant of fluoride and hydrogen ions in seawater. *Mar. Chem.*, **21**: 161-168.
- REDFIELD, A.C., KETCHUM, B.H. Y RICHARDS, F.A.-1963. The influence of organisms on the composition of sea-water. En: *The Sea* (N.H. Hill, E.D. Goldberg, C.O.D. Iselin y W.H. Munk, eds). Willey, New York. pp. 26-77.
- SKIRROW, G.-1975. The dissolved gases-carbon dioxide. En: *Chemical Oceanography* (J.P. Riley y G. Skirrow, eds). Academic Press, New York, **2**: 1-192.
- SPENCER, C.P.-1975. The micronutrient elements. En: *Chemical Oceanography* (J.P. Riley y G. Skirrow, eds). Academic Press, Londres. Vol. **2**, pp. 245-300.
- ULLMAN, W.J. Y ALLER, R.C.-1982. Diffusion coefficients in nearshore marine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, **27**(3): 552-556.
- VAN DER BERG, C.M.G. Y ROGERS, H.-1987. Determination of alkalinities of estuarine waters by a two-point potentiometric titration. *Mar. Chem.*, **20**: 219-226.
- WEDBORG, M.-1988. Alkalinity in seawater and estuarine water. Some limitations in the two-point method. *Mar. Chem.*, **24**: 337-343.

INFLUENCIA DEL MATERIAL PARTICULADO EN LA DETERMINACION DE LA ALCALINIDAD DEL AGUA DE MAR

G. Rosón y Fiz F. Pérez

Equipo de Oceanología. Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo (CSIC).

RESUMEN.

Se ha hecho una estimación de la concentración de ión calcio procedente de material particulado en agua de mar recogida en distintos puntos de la Ría de Arosa. El filtro se somete a la disolución del carbonato cálcico por adición de ClH, dejándolo actuar durante una hora. La determinación del ión calcio se realiza por valoración potenciométrica con agente complejante EGTA (ácido etilenglicol-bis (2-aminoetileter)-N, N, N', N', tetraacético), usando tampón bórax. Las escasas concentraciones encontradas hacen mínimo el error debido al material particulado en los métodos de valoración de la alcalinidad.

SUMMARY.

An estimation of calcium ion concentration proceeding from particulated material in seawater was performed. Filter subjectes to dissolution of calcium by addition of ClH, leaving it to act for an hour. The determination of calcium ion was is performed by potentiometric titration with EGTA (ethyleneglycol-bis(B-aminoethylether), N, N, N', N', tetraacetic acid) as titrant an borax as buffer. The smalls concentrations founded produces a minimum error due to particulated material in methods of alkalinity titration.

INTRODUCCION.

Dentro de la gran variedad de microorganismos que habitan en el agua de mar, existen ciertos organismos cuyos caparazones son de origen calcáreo; la presencia de estos organismos puede influir en la determinación de los parámetros que definen

el sistema del carbónico, pH y alcalinidad. Hasta ahora la investigación científica de dicha influencia no se refleja en la literatura. Al estar directamente relacionado con el sistema del carbónico-carbonato cálcico, el contenido en calcio particulado nos puede dar una idea de la diferencia entre el contenido en alcalinidad de una muestra de agua de mar filtrada (separada de esos organismos y de la totalidad de la materia orgánica particulada) y sin filtrar. Uno de los objetivos de este trabajo es, pues, cuantificar dicha diferencia, para comprobar si está dentro de los límites de reproducibilidad de los métodos de determinación de la alcalinidad (0,1%, que supone $2 \mu\text{mol Kg}^{-1}$ en alcalinidad o $1 \mu\text{mol Kg}^{-1}$ en carbonato cálcico particulado, y para evitar errores de contaminación producidos por la manipulación de la muestra en el filtrado previo a la determinación de la alcalinidad. En principio, el calcio particulado debe tener influencia sobre la determinación de la alcalinidad pero no sobre la medida del pH, ya que en este, la materia orgánica suspendida no debe afectar a la señal del electrodo.

MATERIAL Y METODOS.

Las muestras fueron recogidas durante la Campaña oceanográfica GALICIA X en la Ría de Arosa (NO de España) los días 31-8, 7-9 y 27-10 de 1989. En la figura 1 se ofrece un mapa de la ría y la situación de las estaciones, así como la profundidad de cada estación. El volumen de agua de mar recogido (0,5 ó 1 l) se pasó a través de un filtro de Whatman GF/C con una succión máxima de 0,4 atm, para evitar la rotura celular.

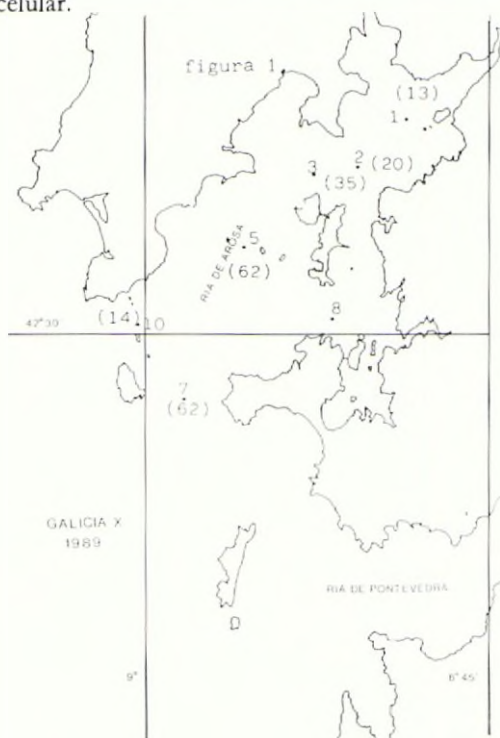


Figura 1.- Mapa de la Ría de Arosa donde se indica la situación de las estaciones y, entre paréntesis, su profundidad.

Al terminar este proceso, los filtros que se especifican (véase tabla 1) fueron lavados con 3-4 ml de agua destilada para eliminar las partículas de sal que pudieran haberse quedado adheridas al filtro. Los tres tipos de blancos se hicieron a) filtrando agua destilada, b) filtrando agua de mar libre de material particulado (previamente filtrada) lavando al final con agua destilada y c) filtrando agua de mar libre de material particulado (previamente filtrada) lavando al final con agua destilada y c) filtrando agua de mar libre de material particulado sin lavar con agua destilada. Todo este proceso se realizó a bordo. Una vez en tierra se llevó a cabo el proceso de disolución del carbonato cálcico, añadiendo 2 ml de HCl 0,13 M (suficiente para disolver 100 μmol de CaCO_3) y dejándolo actuar durante una hora, tras lo cual se valoró el Ca^{++} potenciométricamente con electrodo de membrana líquida selectivo al ión calcio (Metrohm 6.0504.100), con el agente complejante EGTA $1,25 \times 10^{-3}$ M (Sigma), y tamponado con 25 ml de bórax/ NaOH 0,1/0,05 M ($\text{pH}=9,5$), combinando los métodos propuestos por M. WHITFIELD *et al.*, (1969), S. KANAMORI y H. IKEGAMI (1980) y B.S. KRUMGALZ y R. HOLZER (1980). La titulación se realizó con un valorador automático Metrohm 670 titroprocessor, provisto de bureta automática Metrohm 665 Dosimat.

RESULTADOS Y DISCUSION.

De los resultados obtenidos se aprecia que las muestras de fondo tienen mayor concentración de carbonato cálcico particulado que las muestras subsuperficiales. Este hecho puede ser consecuencia de la acumulación de partículas de origen calcáreo en el agua profunda de la ría. En todo caso, las concentraciones de calcio particulado son pequeñas, no mayores que 2 $\mu\text{mol/l}$, que representaría un 0,01% del total de calcio disuelto en el agua de mar y un 0,1% de alcalinidad. De este dato se deduce que la influencia que el material particulado puede tener en el método de determinación de la alcalinidad por valoración directa sin filtrar es mínima, menor en todo caso que el límite de reproducibilidad del método (0,1%). Este hecho se confirma en el caso de agua costeras, donde la producción está dominada por organismos no calcáreos. En zonas donde existan concentraciones de carbonato cálcico particulado mayores, habría que tener en cuenta su influencia en la alcalinidad.

CONCLUSIONES.

El método propuesto es sencillo y de fácil realización. Sin embargo, las escasas concentraciones de calcio particulado de las aguas de la Ría de Arosa, hacen que los resultados están cercanos al límite de sensibilidad del método. Así pues, los resultados no son extrapolables a mares oligotróficos tropicales, donde las concentraciones de nutrientes son menores y la presencia de organismos calcáreos es más elevada que en aguas costeras.

TABLA 1

Valores obtenidos para las concentraciones de calcio particulado para cada día y estación. Se ofrece también el resultado del análisis de los tres tipos de blancos.

(Ca_{tot}: cantidad total de calcio contenida en el filtro; Ca_p: concentración de calcio particulado).

Día	Estación	Profundidad (m)	Filtrado (l)	Ca _{tot} (μmol)	Ca _p (μmol / l)	Observac.
31-8-89	1	0	0,5	2,51	0,82	sin lavar
		3	0,5	2,53	0,86	sin lavar
		6	0,5	2,63	1,06	sin lavar
		9	0,5	2,50	0,80	sin lavar
		12	0,5	2,93	1,66	sin lavar
7-9-89	2	0	0,5	2,49	0,78	sin lavar
		3	0,5	2,42	0,64	sin lavar
		6	0,5	2,33	0,46	sin lavar
		9	0,5	2,37	0,54	sin lavar
		12	0,5	2,48	0,76	sin lavar
27-10-89	3	20	1,0	3,70	1,60	sin lavar
		35	1,0	0,99	0,21	lavada
		5	1,0	0,72	0,00	lavada
		5	1,0	1,35	0,57	lavada
		7	1,0	0,80	0,02	lavada
		8	1,0	1,02	0,24	lavada
		8	1,0	1,10	0,32	lavada
		10	1,0	0,78	0,00	lavada
BLANCOS	(a) Agua destilada			1,01	0,23	lavada
				0,73		
				0,83		
	(b) Agua de mar filtrada			0,71		
				0,63		
				0,72		
	Filtro lavado con agua destilada			0,94		
				0,77		
				0,94		
	Media (a), (b)			0,78 ± 0,10 (n=8)		
				2,47		
				2,19		
	(c) Agua de mar filtrada			1,90		
				1,94		
				1,91		
	Filtro sin lavar			2,02		
				2,25		
				2,10 ± 0,20 (n=7)		
	Media (c)			2,10 ± 0,20 (n=7)		

(*) A los resultados de los filtros que hayan sufrido la operación de lavado posterior se les ha restado la media de los blancos de agua destilada (a) y agua de mar filtrada lavada (b) (0,78 μmol), mientras que a los resultados de los filtros sin lavar, se les ha restado la media de los blancos de agua de mar filtrada sin lavar (2,10 μmol).

BIBLIOGRAFIA:

- PEREZ, F. F. Y FRAGA, F. (1987). A precise and rapid procedure for alkalinity determination. *Mar. Chem.*, **21**, 169–182.
- WHITFIELD, M., LEYENDEKKERS, J. V. Y KEER, J. D. (1969). Determination of calcium and magnesium in the presence of sodium. *Anal. Chem. acta.*, **45**, 399.
- KANAMORI, S., IKEGAMI, H. (1980). Computer-processed potentiometric titration for the determination of calcium and magnesium in seawater. *J. of Oceanograph. Soc. of Japan*, **36**, 177.
- KRUMGALZ, B. S. Y HOLZER, R. (1980). On the determination of calcium ion concentration in seawater. *Am. Soc. of Limnol & Ocean.*, **25**, 367.
- WANGERSKY, P. J. (1969). Distribution of suspended carbonate with depth in the ocean. *Limnol & ocean.*, **14**, 4–6.
- BREVER, P. G., (1975), An oceanic calcium problem? *Earth and planetary science letters*, **26**, 81–87.
- FITGERALD, M.G. *et. al.* (1979). Particulate calcium carbonate in New England shelf waters: result of shell degradation and resuspension. *Sedimentology*, **26**, 853–857.

EFECTO DE LA MATERIA EN SUSPENSION EN EL ANALISIS DE NUTRIENTES CON UN ANALIZADOR DE FLUJO CONTINUO DE TERCERA GENERACION

*M. Arjonilla**, *J. M. Forja*** y *A. Gómez-Parra**.

* Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.), 11510 Puerto Real (Cádiz).

** Dpto. Química-Física. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz.
11510 Puerto Real (Cádiz).

RESUMEN.

Se ha medido la influencia de la turbidez de las muestras en el análisis de nutrientes en agua de mar. Las determinaciones se han realizado con un analizador de flujo continuo segmentado (Technicon, TRAACS 800) para los intervalos de concentración de nutrientes y sólidos en suspensión habituales en la Bahía de Cádiz. Se ha observado que el error absoluto de las medidas guarda una relación lineal con la turbidez de las muestras. El error en la determinación de SiO_2 es entre 4 y 5 veces superior al encontrado para el HPO_4^{2-} , NH_4^+ o NO_2^- , en el intervalo de concentración ensayado. Esto se imputa a una disolución parcial de la sílice biogénica, contenida en los sedimentos en suspensión, durante el proceso analítico.

SUMMARY.

Effect of suspended matter over nutrient analysis with a continuous flux analyzer of third generation. The effect of turbidity on seawater samples over the exactitude of nutrient analysis has been evaluated. The determination has been made with a third generation segmented analyzer (Technicon, TRAACS 800). The nutrient concentration and suspended solid concentrations are ranged among the usual concentrations in the Cádiz Bay. The absolute error in the measurements is a lineal function of the suspended solids contents. The errors in silicate determinations is between 4 and 5 times greater to phosphate, ammonium and nitrite ones. This fact can be attached to the partial dissolution of biogenic silica in the suspended solids during analytical procedure.

INTRODUCCION.

En la actualidad, es una práctica generalizada en los laboratorios oceanográficos de todo el mundo la determinación de los nutrientes presentes en el agua de mar mediante analizadores de flujo continuo. Esto se debe fundamentalmente a la rapidez con que se llevan a cabo los análisis y a la precisión de los mismos. Ambos aspectos son muy importantes cuando el número de muestras a procesar es elevado. Con este tipo de equipos es posible realizar a una misma muestra distintos análisis simultáneos si se disponen de varias unidades analíticas acopladas en el mismo sistema. Otro aspecto a tener en cuenta es el considerable ahorro de reactivo que conlleva este tipo de determinaciones, dados los pequeños diámetros internos que poseen las líneas de las unidades analíticas. Por último, es también muy importante el hecho de que las cantidades de muestra necesarias para realizar las diferentes determinaciones se reducen considerablemente respecto a los métodos manuales. Eso tiene un especial interés cuando se analizan muestras de agua intersticial, de la que generalmente se dispone de poco volumen.

Recientemente ha aparecido en el mercado la tercera generación de analizadores de flujo continuo, que presentan algunas innovaciones importantes respecto a las generaciones anteriores, fundamentalmente en lo que respecta a la rapidez en el análisis.

En el estudio de las zonas costeras las muestras de agua de mar presentan generalmente un alto contenido en sólidos en suspensión procedente, principalmente, de la remoción del fondo por el viento o las corrientes. Este material particulado debe eliminarse por centrifugación o filtración (Marvin *et al.*, 1972), ya que con estos equipos no pueden realizarse correcciones por turbidez de manera similar a cuando los análisis se efectúan de manera manual. No obstante, para algunas especies químicas, esta manipulación de las muestras antes de su análisis ocasionan de manera prácticamente inevitable su contaminación (Grasshoff *et al.*, 1983).

En este trabajo se cuantifica el error introducido por la turbidez de las muestras en las medidas de la concentración de fosfato, silicato, amonio y nitrito utilizando un analizador de flujo continuo segmentado de tercera generación.

MATERIAL Y METODOS.

Se ha utilizado un Autoanalizador de Flujo Continuo Segmentado Technicon Traacs 800 con cuatro canales: Nitrito, Silicato, Amonio y Fosfato. Este equipo posee, entre otras, las siguientes características:

- El diámetro interno de las líneas se reduce a 0.76 mm, lo que conlleva un mayor ahorro en la cantidad de reactivos y muestras.
- Las células de medida alcanzan hasta 50 mm de longitud, lo que se traduce en una gran precisión en las determinaciones.
- Los flujos que circulan a través del sistema van segmentados por burbujas de aire que entran cada segundo, y que proporcionan que la velocidad de análisis pueda ele-

varse hasta cuatro veces (120 muestras/hora), en algunos casos, con respecto a los anteriores analizadores de flujo continuo, pues se disminuye considerablemente la difusión longitudinal de los analitos y se favorece la mezcla de la muestra con los reactivos.

- La adquisición de datos se realiza a través de un ordenador compatible cuyo software maneja un desburbujeador electrónico. De esta forma ya no se hace necesario desburbujear mecánicamente antes de entrar en la célula de medida, lo que permite aumentar considerablemente la velocidad del análisis.
- El ordenador permite, asimismo, elaborar protocolos de trabajo, de tal manera que se pueden modificar a voluntad los tiempos de muestreo y de lavado entre muestras, dependiendo del valor de sus concentraciones y la precisión que requiera el análisis.
- Es posible adquirir hasta 1 datos s^{-1} para cada canal, lo que implica que a una misma muestra se le realizan del orden de 25 determinaciones o más por canal, que posteriormente promedia. Esto se traduce en una mayor precisión en las determinaciones.
- Una vez concluido el análisis se realizan automáticamente, si así se desea, correcciones por deriva de línea base, incremento de ganancia y arrastre de color, y se almacenan datos y gráficos.

Los esquemas de las unidades analíticas empleadas se presentan en la Fig. 1. Todos ellos son adaptaciones al análisis en continuo de los métodos descritos por

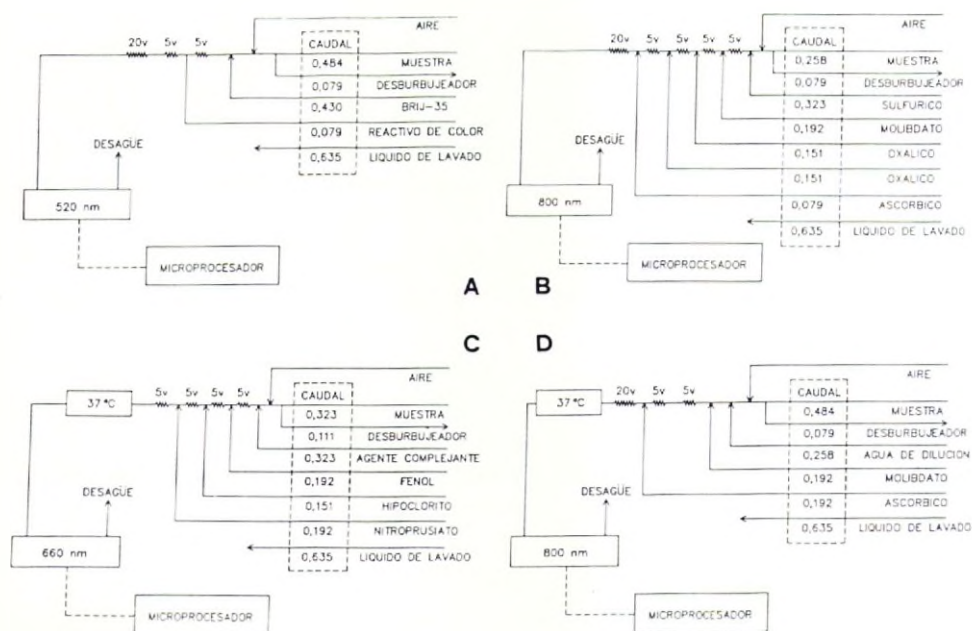


Figura 1.- Circuitos analíticos empleados para: a) NO_2^- , b) SiO_2 , c) NH_4^+ y d) HPO_4^{2-} .

Grasshoff *et al.*, (1983). El canal de Nitritos es una adaptación del método de Bendschneider y Robinson (1952). Está basado en la reacción del ión nitrito con la sulfanilamida para dar un diazo que se acopla con cloruro de N-1-Naftiletildiamina para formar un compuesto coloreado que se mide a 520 nm (Anónimo, 1987). Se ha modificado el flujo del desburbujeador respecto al propuesto inicialmente por el fabricante. La unidad analítica de Silicatos se basa en la reducción de un silicomolibdato en solución ácida a molibdeno azul mediante ácido ascórbico. Se introduce ácido oxálico en el sistema para minimizar su interferencia con el fosfato. La medida se hace a 800 nm (Anónimo, 1986a). La determinación de Amonio está basada en la reacción de Berthelot (1859): cuando una sal de amonio está en presencia de ión fenóxido, y tras la adición de hipoclorito sódico, se forma un complejo azul que puede medirse a 660 nm. Se añade, asimismo, solución de tartrato sódico potásico y citrato sódico para eliminar la precipitación del hidróxido de Ca y Mg. Se ha modificado el flujo del desburbujeador respecto al método del fabricante (Anónimo, 1986b) y la concentración de hipoclorito (20 g/L), por mejorarse apreciablemente la sensibilidad del método. El canal de ortofosfato se basa en la formación de un complejo azul de fosfomolibdeno que puede determinarse espectrofotométricamente a 800 nm. La interferencia del Cobre y del Hierro es insignificante. La sílice, en niveles de 100 $\mu\text{at-g Si/L}$, causa interferencias equivalentes a 0.04 $\mu\text{at-g P/L}$. Aunque el Arsenato interfiere en esta reacción, se encuentra siempre en concentraciones tan pequeñas en el agua de mar que no produce un cambio significativo en el valor de las medidas. En el método propuesto por el fabricante (Anónimo, 1986c) se ha introducido la modificación de pasar la línea por el baño termostatzador a 37°C, pues esta circunstancia favorece el desarrollo de color y hace la medida independiente de la temperatura del ambiente y de las muestras.

Por dilución de las soluciones madres de NO_2^- , SiO_2 , HPO_4^{2-} y NH_4^+ se prepararon tres patrones de concentraciones crecientes que contenían a los cuatro nutrientes. De éstas se tomaron alícuotas a las que se añadieron distintas cantidades de sedimento (entre 0 y 60 mg/L) de naturaleza predominantemente arcillosa ($< 15\mu\text{m}$). De forma simultánea, se realizaron ensayos en blanco para determinar la cantidad de nutrientes que libera el sedimento. Todas las diluciones fueron preparadas con agua Milli-Q (Tabla I).

Se midió la turbidez de estas dispersiones con un Turbidímetro de HF Instruments Modelo DRT 100 (Tabla II).

TABLA I

Valores reales de la concentración de nutrientes en las soluciones preparadas.

Soluciones	NO_2^-	SiO_2	NH_4^+	HPO_4^{2-}
Blanco	0	0	0	0
Patrón 1	0,5	10	5	2,4214
Patrón 2	1	20	10	4,8427
Patrón 3	2	40	20	9,6855

TABLA II

Valores de turbidez (NTU) para las diferentes muestras en función del contenido en sólidos en suspensión.

Soluciones	Sólidos en suspensión (mg/L)						
	0	10	20	30	40	50	60
Blanco	0,12	5,6	8,0	13,0	19,0	24,0	30,0
Patrón 1	0,25	5,3	8,0	13,5	18,0	23,0	28,0
Patrón 2	0,22	5,2	8,0	12,5	18,0	24,0	28,0
Patrón 3	0,24	5,5	8,0	13,0	17,0	24,0	29,0

Las soluciones se mantuvieron agitadas durante el análisis de nutrientes, a fin de mantener homogéneas las suspensiones de sedimento. Las determinaciones se hicieron en todos los casos por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados obtenidos se muestran en las Figs. 2 y 3. Puede observarse que los valores obtenidos para las concentraciones de nutrientes (concentraciones aparentes), en muestras con una misma concentración real, guardan una relación lineal con el contenido en sólidos en suspensión. Esta relación se mantiene para las distintas concentraciones ensayadas.

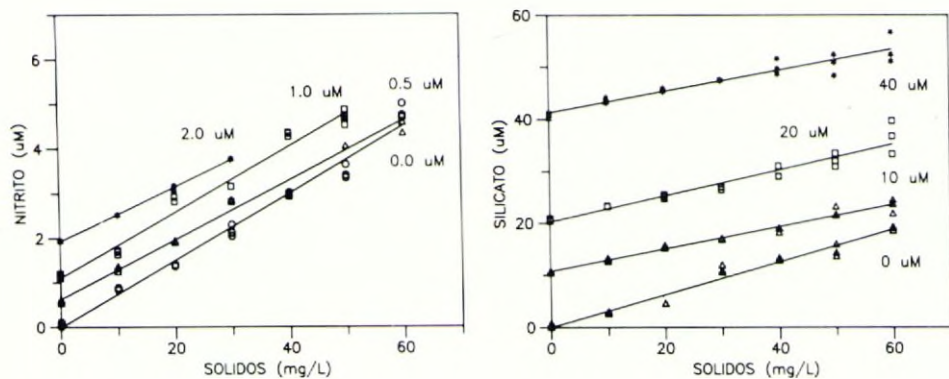


Figura 2.- Valores aparentes de la concentración de NO_2^- y SiO_2 en función del contenido en sólidos en suspensión de las muestras. Las concentraciones reales se indican en la figura.

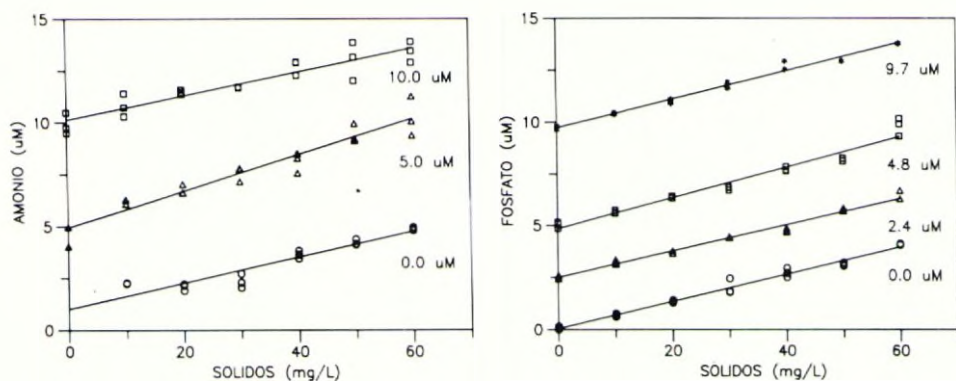


Figura 3.- Valores aparentes de la concentración de NH_4^+ y HPO_4^{2-} en función del contenido en sólidos en suspensión de las muestras. Las concentraciones reales se indican en la figura.

TABLA III

Parámetros de ajuste de las regresiones entre las concentraciones medidas y el contenido en sólidos en suspensión.

Nutriente	Pendiente	Coef. regresión
NO_2^-	$0,070 \pm 6,4 \cdot 10^{-3}$	$0,988 \pm 8,9 \cdot 10^{-3}$
NH_4^+	$0,070 \pm 1,5 \cdot 10^{-2}$	$0,939 \pm 1,8 \cdot 10^{-2}$
HPO_4^{2-}	$0,067 \pm 4,9 \cdot 10^{-3}$	$0,989 \pm 6,7 \cdot 10^{-3}$
SiO_2	$0,245 \pm 5,9 \cdot 10^{-2}$	$0,962 \pm 1,8 \cdot 10^{-2}$

En la tabla III se indican, junto con los coeficientes de regresión, los valores de las pendientes de las rectas $y = m \cdot x + n$, en las que y es la concentración aparente de un nutriente dado, x es el contenido en sólidos en suspensión (en mg/L), n el valor de la concentración real y m la pendiente que, en este caso, representa el error introducido en las medidas por cada mg/L de material suspendido. Puede observarse que el valor de m es prácticamente el mismo para el NO_2^- , NH_4^+ y HPO_4^{2-} , lo que indica que la turbidez de las muestras introduce un error sistemático en las medidas que es independiente a la longitud de onda a la que se trabaja (en este caso 520–800 nm).

Para el SiO_2 este error, medido por el valor de la pendiente, es unas tres veces superior. Esto podría estar relacionado con la existencia, además del efecto de dispersión de la radiación, de una disminución de la transmitancia debida a la reacción de la sílice biogénica particulada durante el proceso analítico. No obstante, es sorprendente el que esa posible interferencia de la sílice particulada no sea función de su concentración, como se deduce de la relación lineal encontrada entre las concentraciones aparentes de SiO_2 y los sólidos en suspensión. Si la hipótesis indicada fuera cierta, este hecho indicaría que la cantidad de sílice particulada presente en todos los casos está en exceso con respecto a la concentración de los reactivos analíticos o, al menos, con respecto a la de uno de ellos.

Por otra parte, si bien el error absoluto en la determinación de los otros nutrientes es constante para un mismo contenido en sólidos en suspensión, en términos relativos su valor es muy diferente si se consideran las concentraciones usuales de NO_2^- , NH_4^+ y HPO_4^{2-} en las zonas costeras, que son en las que suelen encontrarse altos contenidos de sólidos en suspensión.

AGRADECIMIENTOS.

Deseamos agradecer a Dña. Ma Francisca Osta y a Dña. Ma del Carmen Oneto su ayuda en el trabajo experimental.

REFERENCIAS.

- ANONIMO, 1986a.-Silicates in Water and Seawater. Technicon Instruments Corporation, New York. Industrial Method 811-86T: 7 pp.
- ANONIMO, 1986b.-Ammonia in Water and Seawater. Technicon Instruments Corporation, New York. Industrial Method 804-86T: 8 pp.
- ANONIMO, 1986c.-Orto Phosphate in Water and Seawater. Technicon Instruments Corporation, New York. Industrial Method 812-86T: 10 pp.
- ANONIMO, 1987.-Nitrite in Water and Seawater. Technicon Instruments Corporation, New York. Industrial Method 817-87T: 8 pp.
- BENDSCHNEIDER, K. Y R.J. ROBINSON, 1952.-A new spectrophotometric method for the determination of nitrite seawater. J. Mar. Res 11(1): 87-96.
- BERTHELOT, M.E.P. 1859.-Répertoire de Chimie Appliquée: 284 pp.
- FORJA, J. 1990.-Regeneración Bentónica de Nutrientes en la Bahía de Cádiz. Tesis Doctoral. Univ. Cádiz: 381 pp.
- GRASSHOFF, K.; M. EHRHARDT Y K. KREMLING, 1983.- Methods of Seawater Analysis. Verlag Chemie, R.F.A: 419 pp.
- MARVIN, K.T.; R.R. PROCTOR, JR. Y R.A. NEAL, 1972.- Some Effects of Filtration on the Determination of Nutrients in Fresh and Salt Water. Limnol. Ocean. 17: 777-784.

DETERMINACION POTENCIOMETRICA DE CALCIO EN AGUA DE MAR

G. Rosón y Fiz F. Pérez.

Equipo de Oceanología. Instituto de investigaciones marinas de Vigo (CSIC).

RESUMEN.

Se propone un método analítico para la determinación de ión calcio en agua de mar, por valoración volumétrica, con detección potenciométrica del punto final mediante electrodo selectivo al ión calcio, usando el agente complejante EGTA (ácido etilenglicol-bis- (2-aminoetileter)-N, N, N', N', tetraacético), que hace mínima la interferencia con otros iones alcalinotérreos. La cantidad de bórax añadido resulta óptima para tamponar el pH durante la titulación. El método se aplicó al estudio de dos cortes realizados en la Ría de Arosa, durante la campaña oceanográfica GALICIA X. La reproducibilidad obtenida fue de 0,04%, superior a la obtenida en otros métodos con punto final potenciométrico o con indicadores colorimétricos.

SUMMARY.

An analytical method for the determination of calcium ion in seawater is proposed, by volumetric titration with potentiometric detection of end-point by calcium ion selective electrode, using EGTA (ethylene-glycol-bis (B-aminoethylether), N, N, N', N', tetraacetic acid) as a titrant, which produces least interference with other alkaline ions. The amount of added borax is eminently good for buffering the pH during the titration. The method was applied to the study of two legs performed in Ría de Arosa, during the cruise GALICIA X. A reproductibility of 0.04% was obtained, better than other methods with potentiometric end-point or colorimetric indicators.

INTRODUCCION.

La presencia del ión Ca^{++} en agua de mar juega un papel muy importante en la solubilidad o precipitación de minerales de calcio. En el agua de mar de salinidad 35

por mil el calcio se encuentra en concentración de 0,01 M, 5 veces menor que el Mg^{++} , el cual produce dos efectos de interferencia durante la valoración, en el electrodo selectivo de calcio y en la complejación secundaria con EGTA. El primer efecto se cuantifica a través de la constante de selectividad del electrodo que suele ser pequeña tanto para el Mg^{++} como para los demás cationes existentes en agua de mar; el segundo efecto es apenas perceptible, debido a la gran diferencia entre las constantes de estabilidad de los complejos ($\log K(Ca-EGTA)=11,0$; $\log K(Mg-EGTA)=5,2$). Sin embargo, en las proximidades del punto final de la valoración debido a la escasa concentración de Ca^{++} , la competencia del Mg^{++} se hace más importante, constituyendo este hecho una causa de error sistemático del método. El efecto del Sr^{++} es aún menos acusado por su baja concentración en agua de mar.

La valoración de calcio por complejación está bien argumentada. La determinación puede hacerse principalmente por dos métodos: métodos con indicador colorimétrico y métodos con punto final potenciométrico. Las ventajas de éstos sobre aquéllos es que no existen interferencias de otros cationes presentes en agua de mar y no hay que separar el calcio de los demás metales alcalinotérreos antes de la valoración, por lo que no requieren operaciones previas. Sin embargo, Culkin y Cox (1966) desarrollan un método con indicador colorimétrico que evita dicha separación, por medio del complejo $(Zn-EGTA)^{-2}$ y el indicador indirecto Zincon que vira de naranja a azul al formarse el complejo $(Ca-EGTA)^{-2}$. El método tiene el inconveniente de las fuertes interferencias de Mg^{++} y Sr^{++} si se encuentran en similares concentraciones que en agua de mar. Tsunogai *et al.*, (1968) determinaron el Ca^{++} por valoración visual con gran exactitud ($\infty < 0,1\%$) en presencia de grandes cantidades de Mg, usando GHA como reactivo selectivo al calcio, a $pH=11,7$. El complejo $Ca-GHA$ se extrae cuantitativamente con disolvente orgánico, haciendo mínima la interferencia del Mg al precipitar muy poco su complejo. Sin embargo este método es bastante tedioso en un número elevado de muestras.

Los métodos con punto final potenciométrico usan electrodo selectivo al ión Ca^{++} y valoran con EGTA, o bien utilizan el electrodo sensible a dicaciones y valoran conjuntamente $Ca+Mg$ con DCTA (ácido 1,2-diamonociclohexano N, N, N', N', tetra acético) (ref. 3), o bien $Ca+Mg+Sr$ con EDTA (ácidoetilendiamin N, N, N', N', tetra-cético) (ref. 4). Las precisiones obtenidas son comparables a los métodos con indicador colorimétrico. La adición de una cantidad de ácido 1,2 dihidroxibenzoico o acetilacetona al frasco de valoración hace que la curva de valoración se haga más pronunciada en las proximidades del punto de equivalencia y sea más fácil reconocerlo, aumentando la precisión. Estas sustancias se enlazan débilmente al Mg en una cantidad 100 veces mayor que al Ca (ref. 5). Los iones Mg^{++} y Na^{+} en cantidades similares al agua de mar reducen sustancialmente la altura de la curva dE/dV versus vol. haciendo más difícil la localización del punto final (ref. 6).

MATERIAL Y METODOS.

a) aparatos.

– Titulador automático, Metrohm 670 titroprocessor, provisto de dosificador automático Dosimat 665.

– Electrodo selectivo al ión Ca^{++} , Metrohm 6.0504.100. Su constante de selectividad con el ión Na^+ es $1,4 \times 10^{-6}$ M. Las relaciones máximas $(\text{Mg}^{++}) / (\text{Ca}^{++})$ y $(\text{Sr}^{++}) / (\text{Ca}^{++})$ para que exista una interferencia de 1 mV son 80 y 3 respectivamente.

– Electrodo indicador de vidrio sensible a iones H^+ para medida del pH, Metrohm 6.0202.000.

– Electrodo de referencia Ag/ClAg , con unión de junta esmerilada.

b) reactivos.

– EGTA (ácido etilenglicol-bis- (2-aminoetileter) – N, N, N', N', tetraacético) Sigma, 0,18 M, con NaOH 0,63 M, para obtener una relación estequiométrica $(\text{EGTA}) / (\text{OH}^-) = 3,5$.

– Tampón bórax 0,1M, que fue obtenido disolviendo 247,4 g de ácido bórico BO_3H_3 y 100 g de NaOH en 10 l de agua (pH=9,6).

c) patrones.

– Patrón de Calcio: obtenido pesando con precisión alrededor de 1 g de CO_3Ca y disolviéndolo en 0,6 ml de ClH concentrado. Para obtener una concentración iónica similar al gua de mar se añadieron 28,000 g de ClNa , 5,202 g de $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 7,123 g de $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0,014 g de Cl_2Sr y se diluyó a 1 l.

– Subpatrón de calcio: agua de mar envejecida y filtrada para eliminación del material particulado. A partir de su salinidad conocida y por la relación de Dittmar ($\text{Ca}/\text{S}=293,77$ mol/g de sal) se conoce su concentración de calcio.

d) valoración de calcio:

– Una vez pesada la muestra de agua, alrededor de 130 g, se le añaden 25 ml de disolución tampón con dosificador y se introduce el vaso en el sistema. Se realiza una primera adición de EGTA de 5 ml y posteriormente se hacen pequeñas dosificaciones automáticas, para que se vayan construyendo las curvas de valoración (figs. 1a y 1b).

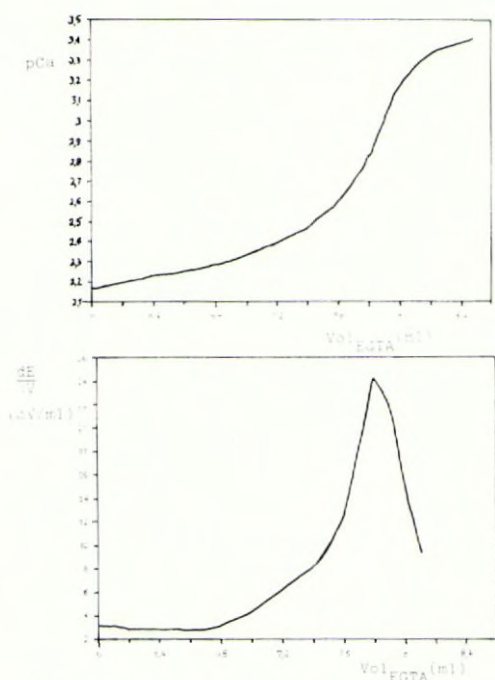


Figura 1.- Curva de valoración potenciométrica directa (a) y derivada (b).

e) muestreo:

Se analizaron muestras de 10 estaciones de la Ría de Arosa y una fuera de dicha ría, en agua oceánica (fig. 2), durante la Campaña GALICIA X, los días 17-8-89 y 28-8-89.

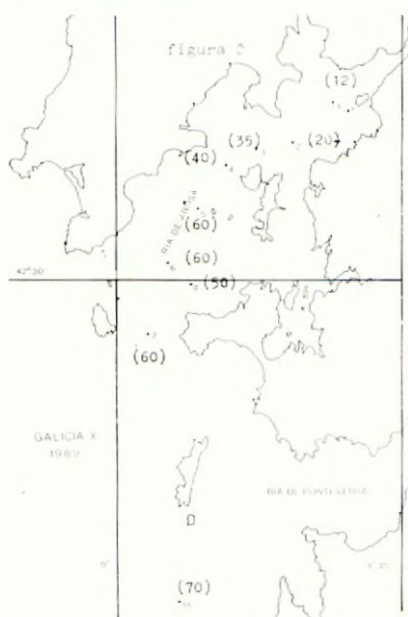


Figura 2.- Mapa de la Ría con la situación de las estaciones su profundidad en metros.

a) Variación del pH durante la valoración:

En la tabla 1 se aprecia la variación del pH durante la valoración monotónica de 130,34 g de agua de mar de salinidad 35,639 g/Kg, con EGTA 0,18 M. El punto de equivalencia se sitúa en 7,6 ml. Se añadieron 25 ml de bórax 0,1 M, haciéndose máxima la capacidad tampón

Tabla 1.

Variación del pH durante la valoración:					
V(ml)	pH	dpH	V(ml)	pH	dpH
0	9,039		6	8,948	0,016
1	9,024	0,015	7	8,935	0,013
2	9,010	0,014	7,6	8,924	0,011
3	8,995	0,015	8	8,919	0,005
4	8,919	0,016	9	8,904	0,015
5	8,964	0,015			

Tanto en el tampón elegido como la relación entre los volúmenes de muestra y de tampón hacen óptima la mínima variación del pH (0,135 unidades), haciéndose así óptimo el rendimiento de la reacción de valoración, ya que el agente complejante se encuentra en este intervalo de pH en la proporción de formas ácido-base deseada.

b) Variabilidad del calcio específico:

El método propuesto es sensible a las pequeñas variaciones de calcio específico (Ca/S) que se producen en zonas costeras. En las figuras 3 a 6 se ofrecen las variabilidades de la salinidad y del calcio específico en las estaciones del eje de la ría y en la estación exterior (11), los días 17-8-89 y 28-8-89. Cada estación se ha dividido en dos niveles de acuerdo con el valor de la integral de salinidad media de todo el corte. Se toma la profundidad de separación de los niveles aquella en la cual coincida el valor de la salinidad media integrada de todo el corte. En las figuras 3 y 5 se reflejan las salinidades medias de cada caja después de haber hecho la división. Se ve que ambas representaciones se corresponden con el modelo de circulación estuárica positiva, en la cual, el agua dulce vertida por el Río en el fondo de la ría y que circula en superficie hacia la boca se mezcla con el agua oceánica de salinidad alta que ha entrado por el fondo, debido a un ascenso de ésta (ref. 7, pág. 106, fig. 2).

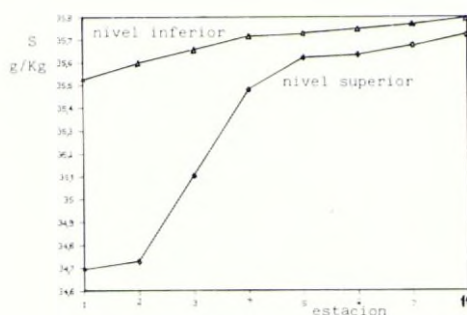


Figura 3.

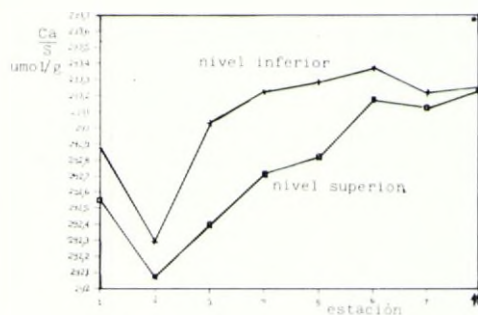


Figura 4.

Figura 3.- Salinidades medias de cada nivel (superior e inferior) en cada estación del eje de la ría y estación 11 (17-8-89).

Figura 4.- Calcio específico medio de cada nivel en cada estación el día 17-8-89.

La circulación se produce principalmente en la zona donde se ubican las estaciones interiores de la ría (1 a 5), pues existe un mayor gradiente de salinidad entre el nivel superior y el inferior en cada estación; es más acusada el 17-8-89 debido al aporte suplementario de agua dulce por ser un día lluvioso. De acuerdo con la misma subdivisión se realizaron las variaciones en cada estación y en cada nivel de calcio específico (figuras 4 y 6). Se comprueba que este parámetro tiene un valor siempre más alto en la caja inferior de cada estación. El día 17-8-89 la tendencia es en general ascendente en ambas cajas según se sale de la ría, lo que indica un consumo de calcio en las estaciones interiores, debido probablemente a la actividad mejillonera. A medida que la situación de la estación se aleja del interior de la ría, la diferencia entre el calcio específico de ambos niveles en cada estación es menor, hasta igualarse en la estación exterior (11). En las estaciones anteriores, el día 28-8-89 el gradiente de calcio específico entre los dos niveles es muy pequeño, lo que indica una situación de mezcla de calcio en toda la columna.

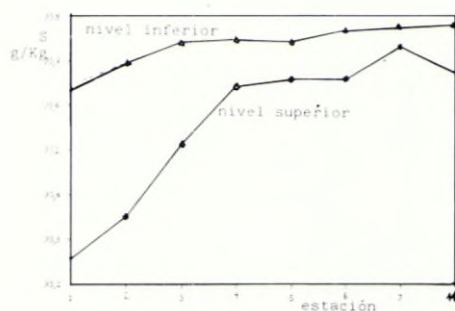


Figura 5.

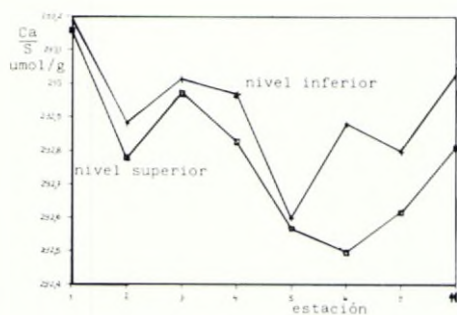


Figura 6.

Figura 5.- Salinidades medias de cada nivel en cada estación el día 28-8-89.

Figura 6.- Calcio específico medio de cada nivel en cada estación el día 28-8-89.

c) Reproducibilidad del método:

La tabla 2 muestra la reproducibilidad del patrón y subpatrón los días de muestreo. Se aprecia que la reproducibilidad en el subpatrón no es mayor de 3 por diez mil, mientras que para el patrón es de 4,1 por diez mil. Ambos valores son superiores a los ofrecidos en los demás métodos colorimétricos y potenciométricos.

Tabla 2

Prueba de reproductibilidad con el patrón y el subpatrón los días de muestreo indicados. (Ca) en $\mu\text{mol/Kg}$.

	Subpatrón (17-8-89)	Subpatrón (28-8-89)	Patrón
(Ca) teórico	10371	10371	9785 $\mu\text{mol/Kg}$
a)	10958	10443	9895
b)	10952	10444	9905
c)	10958	10441	9897
d)	10953	10439	
Media	10955	10442	9899
Desviación(*) 2,5 (n=4)		1,8(n=4)	4,1(n=3)

(*) tanto por diez mil.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) CULKIN, F. Y COX, R.A. (1966). Sodium, potassium, magnesium and calcium in seawater. Deep-sea Res., **13**, 789.
- (2) TSUNOGAI, S., NISHIMURA, M., NAKAYA, S. (1968). Complexometric titration of calcium in the presence of larger amounts of magnesium. Talanta, **15**, 385.
- (3) WHITFIELD, M., LEYENDEKKERS, J.V. Y KEER, J.D. (1969). Determination of calcium and magnesium in the presence of sodium. Analytica Chem. acta, **45**, 399.
- (4) KANAMORI, S. E IKEGAMI, H. (1980). Computer-processed potentiometric titration for the determination of calcium and magnesium in seawater. J. Oceanograph. Soc. of Japan, **36**, 177.

- (5) CHRISTIANSEN, T.F., BUSCH, J.E. Y CROGH, S.C. (1976). Successive determinations of calcium and magnesium in drinking water by complexometric, potentiometric digital titration. Two equivalence points. *Analytical Chem.* **48** (7).
- (6) KRUMGALZ, B.S. Y HOLZER, R. (1980). On the determination of calcium ion concentration in seawater. *Am. Soc. of Limnol & ocean.*, **25**, 367.
- (7) FRAGA, F. Y MARGALEF, R. (1976). Las Rías gallegas. En: Estudio y explotación del mar en galicia, (Universidad de Santiago de Compostela), pp. 101-121. Santiago de Compostela.
- (8) ANDERSON, L. Y GRANELI, A. (1987). A compact automated titration system, applied to a high-precision determination of calcium in seawater. *J. of automatic Chem.*, **4** (2), 75-78.

ELIMINACION DE AMONIO EXCRETADO POR ALEVINES DE DORADA (*Sparus aurata*), POR MEDIO DE ZEOLITAS

J. López Ruiz(*) y A. Vidaurreta Campillo.(**)

(*) Grupo Investigación Zeolitas-Acuicultura. EUIT Navales. Universidad de Cádiz.

(**) Cultivos Piscícolas Marinos SA. San Fernando (Cádiz).

RESUMEN.

Se hace un estudio de la eliminación de amonio producido por alevines de dorada. Las zeolitas son bien conocidas en procesos de agua dulce pero en el agua de mar se producen algunos problemas en el cambio amónico. Estudiamos en este trabajo las cuestiones preliminares, determinándose también otros parámetros como NO_2 , O_2 , pH y temperatura. Se comprueba la efectividad de la retención de amonio por medio de zeolitas.

SUMMARY.

A study of the ammonium from *Sparus aurata* elimination is made. The zeolites are well-known in fresh water process but ammonium exchange in sea water produces some problems. Preliminary questions are studied in this work and some other parameters as NO_2 , O_2 , pH and temperature are also determined. The real sorption of ammonium by means of zeolites is proved.

INTRODUCCION.

Modernamente está teniendo importancia en acuicultura el estudio de la retención de amonio por medio de zeolitas, en sistemas cerrados de agua dulce (1). Los cultivos en agua de mar tienen especiales características de renovación de aguas, con sencilla obtención de la adecuada calidad de ésta. Sin embargo, existen estudios de crecimiento de peces y crustáceos marinos en sistemas cerrados, como es el caso, por ejemplo de almejas y ostras (2), de rodaballos (3), etc., en donde resulta necesaria la cuidadosa purificación de las aguas de cultivo.

También, resulta interesante la eliminación del amonio que producen los alevines en sus transportes desde las hatcheries hasta los criaderos de adultos, empleándose zeolitas para dicha eliminación (4). Otra necesidad de bajos niveles amónicos pueden presentarse en hatcheries y Centros de Investigación.

De todos modos, la eliminación de NH_4^+ por cambio iónico con zeolitas en agua de mar, resulta más difícil que en aguas de río, debido a la competencia que en el equilibrio de sorción amónica presentan los cationes existentes en el mar en grandes concentraciones. Ello resta capacidad de retención y efectividad eliminatoria de los iones NH_4^+ (5), por lo que son importantes los trabajos que se hacen con agua de mar y aquellas zeolitas que demuestran mayores especificidades para el amonio (6).

En éste se hace un estudio preliminar sobre la eliminación de amonio que tiene lugar en el excretado por alevines de dorada (*Sparus aurata*), debido a la presencia de zeolitas. Al propio tiempo se anotan valores de otros parámetros importantes como nitritos, oxígeno, temperatura y pH.

MATERIAL Y METODOS.

Llevamos a cabo dos series de ensayos que llamamos A) y B). En ambos tratamos alevines de dorada de aproximadamente 1 gramo.

En la serie A) se han ensayado 20 alevines en vaso de 1,5 l. El agua de mar natural utilizada aparecía inicialmente con ligera contaminación amónica, según se indica más adelante. Los alevines permanecen en ayuno durante los experimentos y desde un día antes de ellos. La temperatura oscila entre 23 y 25°C. La zeolita es Linde 13X granulada en cilindros de 1 mm de diámetro y alrededor de 5 mm de altura. Los ensayos se llevan a cabo por triplicado para de este modo conocer la tendencia de sus valores amónicos y atenuar los problemas, analíticos entre otros, que puedan presentarse en la interpretación.

En tres vasos colocamos 50 g de zeolita y hay otros tres, testigos, sin ella, anotándose los resultados durante tres días. En todos los vasos se mantienen altos niveles de O_2 por burbujeo de aire mediante compresor.

En la serie B) se ha mantenido una temperatura media de 30°C, con 10 alevines de dorada en 1 litro de agua de mar. Se utilizan zeolitas tipo 13X granulada, ya citada, y F Linde en polvo. Los experimentos se llevan a cabo por duplicado, de acuerdo con el siguiente cuadro, manteniéndose en todos burbujeo de aire:

- a) 10 g 13X/1 de agua.
- b) 25 g F/1 de agua, agregándole una capa de grava y arena para evitar la difusión del polvo de zeolita en el seno del líquido.
- c) 10 g l/ en columna, con recirculación de agua por medio de bomba peristáltica, a razón de 2,5 ml/min, en una columna de 1,5 cm de diámetro y 15 cm de altura.
- d) Testigo sin zeolita.

El amonio se mide por el método del indofenol y el nitrito por espectrofotometría con sulfanilamida y NED.

RESULTADOS Y DISCUSION.

En la serie de ensayos A) hemos experimentado alevines en presencia y ausencia de zeolitas. Los vasos 1, 2 y 3 están sin zeolita y los 4, 5 y 6, contienen 13X (50 g/vaso de 1,5 l). Los resultados se encuentran en la Tabla I.

TABLA I

Resultados de pH, NO₂ (μgN/l), NH₄⁺ (μgN/l) y O₂ (ml/l).

Tiempo (h)	Vaso	pH	media	NO ₂	media	NH ₄ ⁺	media	O ₂ (hora del día)			
								12	13	15	17
0	1	7,54		421		550		109	111		
	2	7,50		532		360		95	96		
	3	7,54	7,52	505	486	390	433	—	77		
	4	7,44		343		520		96	82		
	5	7,55		317		490		119	120		
	6	7,84	7,61	322	327	620	543	117	114		
5	1	7,84		550		1550				113	116
	2	7,76		602		1470				99	106
	3	7,88	7,82	594	582	1640	1553			100	119
	4	7,71		402		1020				110	118
	5	7,83		345		920				123	120
	6	7,73	7,75	396	381	1210	1050			115	126
22	1	7,90		817		6830			108		111
	2	7,87		1084		7100			95		96
	3	7,94	7,90	1056	985	7220	7050		107		110
	4	7,85		505		3610			108		119
	5	7,92		465		3260			110		110
	6	7,77	7,84	508	492	4310	3726		108		100
46	1	8,03		1684		13270			111		
	2	8,01		1566		12310			104		
	3	8,09	8,04	1510	1586	12100	12560		110		
	4	8,04		842		6180			122		
	5	7,89		816		6270			112		
	6	7,94	7,95	968	875	8240	6896		118		
70	1	7,96		1684		11710			130		
	2	7,92		1748		10890			102		
	3	7,99	7,95	1724	1718	11320	11306		116		
	4	7,92		1262		5950			131		
	5	7,89		1184		5480			131		
	6	7,89	7,90	1234	1226	7450	6293		134		

En la Tabla II se encuentran resumidos los valores medios de los referidos parámetros en presencia y ausencia de zeolitas, a diversos tiempos, y en la Figura 1 se observa la tendencia de crecimiento que siguen las concentraciones de amonio con y sin zeolita. La Figura 2 es análoga pero referida a nitritos.

TABLA II

Valores medios de pH, NO_2^- ($\mu\text{gN/l}$) y NH_4^+ ($\mu\text{gN/l}$) a diversos tiempos, en presencia y ausencia de zeolita.

Tiempo (h)	pH		NO_2^-		NH_4^+	
	sin zeolita	con zeolita	sin zeol.	con zeol.	sin zeol.	con zeol.
0	7,54	7,61	486	327	433	543
5	7,82	7,75	582	381	1553	1050
22	7,90	7,84	985	492	7050	3727
46	8,04	7,95	1587	875	12560	6897
70	7,96	7,90	1718	1226	11307	6293

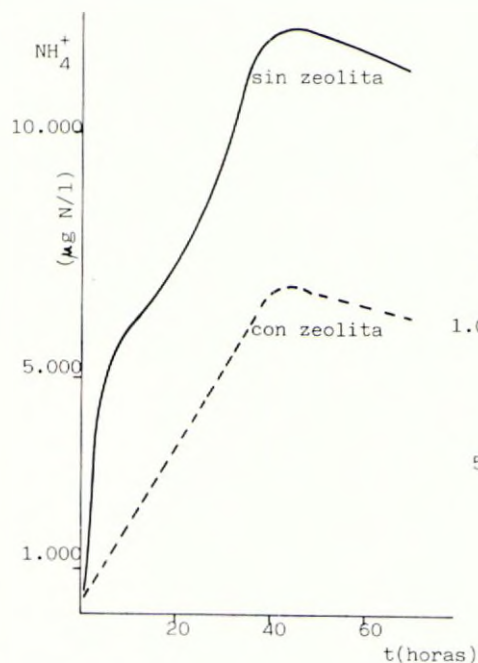


Figura 1.- Evolución de la concentración de amonio, con y sin zeolita, en ensayos de la serie A).

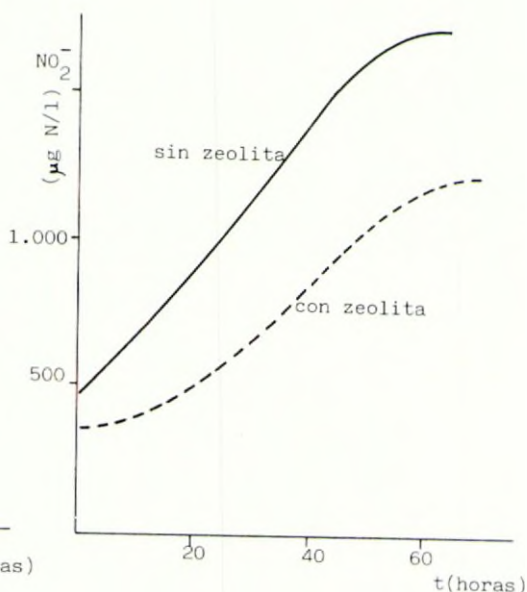


Figura 2.- Evolución de la concentración de nitrito, con y sin zeolita, en ensayos de la serie A).

En los resultados obtenidos aparece una clara tendencia a la disminución de amonio en los vasos conteniendo zeolita, en relación con los que no la tienen. En el tiempo de máxima concentración (46 horas), la disminución ($5.663 \mu\text{gN/l}$) significa el 45%. A partir de dicho tiempo se produce disminución en la citada concentración amónica, tanto en los vasos con zeolita como en los sin ella. En dicho tiempo y en los 1,5 litros, la eliminación ha sido de $\Delta\text{NH}_4^+ = 8.494 \mu\text{g N}$, lo que significan $0,170 \text{ mgN/g}$ de zeolita, esto es, $9,4 \cdot 10^{-3} \text{ meq/g}$.

Por otra parte, a las 22 horas la producción amoniaca es de $0,529 \text{ mgN} (\text{NH}_4^+)/\text{gramo}$ de alevín de dorada (24°C), mientras que a las 46 horas, la producción, a la misma temperatura, es de $0,942 \text{ mgN} (\text{NH}_4^+)/\text{g}$.

Como puede verse en la Figura 2, los nitritos también manifiestan reducción de concentración en presencia de zeolita, apreciándose un progresivo aumento de dicho ion en los dos tipos de experimentos, sin alcanzar la gráfica el punto máximo con posterior cambio de pendiente, en el tiempo empleado en los ensayos. Al final de ellos (70 horas), la diferencia de concentración entre con zeolita y sin ella, es de $492 \text{ gN} (\text{NH}_4^+)/\text{l}$, lo que supone disminución del 28%.

En la serie de ensayos B) se han encontrado los resultados expresados en la Tabla III y en la Figura 3. Se parte de un agua de mar conteniendo $0,6 \text{ ppm}$ de NH_4^+ , pudiéndose observar —Tabla y Figura— que la concentración de amonio crece sensiblemente en los ensayos testigo sin zeolitas, así como que el mejor rendimiento es el originado por el lecho de zeolita 13X (10g/l), bajando mucho cuando se utiliza una columna con la misma cantidad de zeolita, para constituir un circuito cerrado. Esto puede achacarse a la lentitud de la recirculación (150 ml/hora), con la que no puede evacuar el amonio que se produce. Debe sin duda encontrarse un caudal óptimo para su eliminación.

TABLA III

Concentración de amonio según diversos tiempos, así como producciones por gramo de alevín, en los diferentes ensayos efectuados en la serie B).

	Concent. NH_4^+ (ppm)				Producción: $\text{mg NH}_4^+ /$ /g alevín en 19 h
	6 h	10 h	14 h	19 h	
a) 10 g 13X/l	2,2			8,6	0,095
b) F lecho de grava	3,5			10,2	0,113
c) Columna 13X	3,3		11,9	16,1	0,179
d) Testigo	3,4	10,6		20,0	0,222

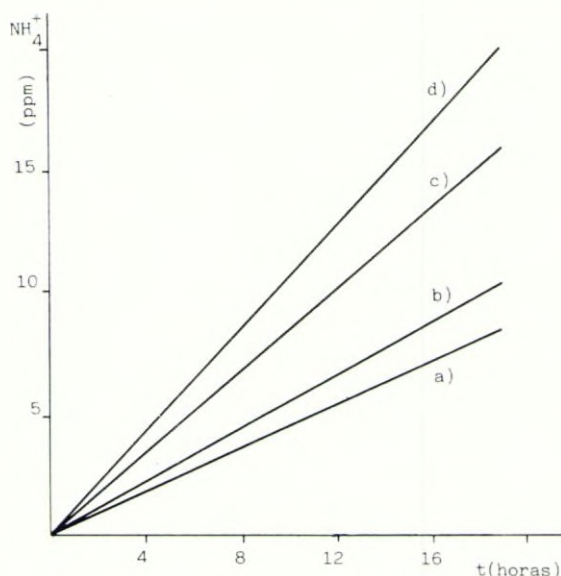


Figura 3.- Concentración de amonio en cada uno de los ensayos de la serie B: a) leche con 10 g 13X/l; b) leche de 25 g F/l con grava y arena; c) columna con 10 g de 13X; d) testigo sin zeolita.

Comparando las gráficas de las Figuras 2 y 3 se observa que a las 10 horas, por ejemplo, la cantidad de NH_4^+ producida por cada gramo de alevín sin zeolita, es mucho mayor en el segundo caso que en el primero (0,48 mg/g y 1,05 mg/g, respectivamente). Esto puede deberse a que en el primer caso los alevines ayunaron en las 24 horas previas y a que la temperatura es sólo de 25°C, mientras que en el segundo, no hubo ayuno previo y la temperatura fue más alta (30°C). Recordemos a estos efectos lo que algunos autores tienen dicho sobre el particular, como Guérin-Ancey (7), por ejemplo, sobre la influencia de la temperatura en la excreción.

En los casos de utilización en suspensión de zeolitas 13X, la producción amónica a las 10 horas es de 0,14 mg NH_4^+ /g de alevín en la serie de ensayos A), mientras que en los B) es de 0,45 mg NH_4^+ /g de alevín. La diferencia debe atribuírsele al hecho de mayor cantidad de zeolita eliminadora; 33 g/l en el primero y 10 g/l en el segundo.

De la consideración de la Tabla III resulta evidente el mejor rendimiento de la zeolita 13X (10 g/l) frente a la F (25 g/l) en las condiciones en que se utilizan. Esto se encuentra en contra de lo que podía esperarse, toda vez que en ensayos anteriores (8) tenemos registrada una mayor capacidad de la F que de la 13X. Sin duda, la existencia del lecho de grava y arena dificulta la difusión de los iones hasta el fondo zeolítico en el tiempo preciso para que actúe la bien probada capacidad eliminadora de dicha zeolita.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- MUMPTON, F.A. Y FISHMAN, P.H.; J. of Animal Science 45,5 (1979), 1188.
- 2.- FOSTER, J.R.; Aquaculture 4 (1974), 387.
- 3.- POXTON, M.G. y otros; Aquacultural Engineering 1(1982), 23.
- 4.- LEONARD, D.W.; Paper to British Zeolite Ass. (1980).
- 5.- LOPEZ RUIZ, J., GOMEZ GARRUDO, Ma E. y GALVIN MOARES, Ma; XII Reunión Ibérica de Adsorción, Badajoz (1987).
- 6.- LOPEZ RUIZ, J Y FERNANDEZ DEL BARRIOS, Ma Ta; Ingeniería Química 222 (1987), 143.
- 7.- GUERIN-ANCEY, O.; Aquaculture 9(1976), 71.
- 8.- LOPEZ RUIZ, J.; Trabajo para Diputación de Cádiz (1988).

AGRADECIMIENTO.

Uno de nosotros (JIR) agradece a CUPIMAR (San Fernando) en cuyos laboratorios se han llevado a cabo la serie de ensayos A), la colaboración y las facilidades dadas para la realización de este trabajo especialmente la cesión de alevines.

LECHO DE ZEOLITA PARA LA ELIMINACION DE AMONIO EN AGUA DE MAR

J. López Ruiz.

Grupo Investigación Zeolitas. EUIT Navales. Universidad de Cádiz.

RESUMEN.

Se ha preparado un lecho de zeolita bajo una capa de 0,5 cm de grava y arena. Mediante un compresor se produce una corriente de aire, agregándose periódicamente 9 mg $\text{NH}_4(+)$ /l. Se mide la concentración amónica residual y aparece comprobada su sorción por la zeolita.

SUMMARY.

A zeolite bed under 0.5 cm gravel and sand layer has been prepared. An air current is supplied by a compressor being periodically added 9 mg $\text{NH}_4(+)$ /l. Residual ammonium concentration is measured and the sorption by zeolites is proved.

INTRODUCCION.

Han sido descritos cultivos de peces y crustáceos en agua de mar y circuitos cerrados, como es el caso por ejemplo de la cría de calamares (1), langostinos y langostas (2), rodaballos (3), etc. En estos cultivos resulta manifiesta la necesidad de llevar a cabo correcciones en la calidad del agua para mantenerla dentro de límites adecuados. Uno de los problemas más importantes es el de la reducción del contenido amónico, cosa que puede conseguirse por tratamiento con zeolitas (4). En aguas de río la capacidad de retención amónica de dichas zeolitas es suficiente como para que pue-

dan ser utilizadas eficazmente pero en aguas de mar aparece el problema de la interferencia de los cationes presentes en cantidades notables, especialmente el sodio, que disminuyen sensiblemente la citada capacidad retentiva (5).

Con objeto de estudiar la eliminación de amonio en sistemas acuícolas cerrados con la intervención de zeolitas, hacemos unos ensayos con agua de mar natural a la que se le agregan determinadas cantidades de amonio, controlándose las retenciones.

MATERIAL Y METODOS.

En vasos de 1 litro de capacidad, con agua de mar natural, se dispone un lecho formado por 10 g de zeolita F Linde en polvo, recubierto con una capa de grava y arena, de 0,5 cm de espesor, llevándose a cabo una agitación por medio de burbujeo de una corriente de aire procedente de un compresor, simulándose de esta forma las condiciones aproximadas de un estanque de cultivo.

En otros ensayos, el lecho está formado por 10 g de zeolita 13X Linde granulada en cilindros de aproximadamente 1 mm de espesor y 5 mm de altura, con agitación periódica, sin burbujeo de aire.

En ambos tipos de vasos se agregan periódicamente 9 mg NH_4^+ /litro (CINH_4) y se miden las concentraciones residuales a diversos tiempos de sorción.

La medida de la concentración amónica se hace por el método del indofenol. La temperatura en todos los ensayos es de 30°C.

RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION.

En el lecho de *zeolita F* se consigue una eliminación efectiva de amonio. Se parte de agua de mar conteniendo 4,83 ppm, de amonio y en cada ensayo se realiza una adición de 9 mg NH_4^+ /l, llevándose a cabo medidas de concentración de dicho caución a intervalos periódicos. El tiempo reflejado en la Tabla de resultados (Tabla I) se refiere al comprendido entre la adición de amonio y la medida de su concentración residual, al día, dos o tres siguientes.

Es evidente que se produce una retención amónica por parte del lecho, eliminándose el amonio que se agrega en cada experimento, hasta disminución de la capacidad eliminadora del citado lecho. Esto se produce al cabo de 6 adiciones, lo que significa una eliminación de alrededor de 4 mg NH_4^+ /g de zeolita, es decir, 0,22 meq/g.

Durante las citadas adiciones de NH_4^+ , el lecho es capaz de mantener la concentración amónica por debajo de niveles recomendados como no tóxicos para los peces (4).

TABLA I

Concentraciones de NH_4^+ (ppm) a diversos tiempos y adiciones, en lecho zeolita F.

Ensayo	Tiempos (días)	Concentraciones				Adición
		C_1	C_2	C_3	C	
—	0	—	—	—	4,83	—
1	1	1,40	1,37	1,37	1,38	10,38
2	1	0,50	0,53	0,53	0,52	9,52
3	3	0,16	0,17	0,18	0,17	9,17
4	2	0,15	0,18	0,18	0,17	9,17
5	2	0,69	0,70	0,68	0,69	9,69
6	2	5,69	5,67	5,71	5,69	14,69
7	2	7,73	7,77	7,79	7,76	—

La retención amónica atribuible al lecho, a lo largo de estos ensayos, de $220 \cdot 10^{-3}$ meq/g de zeolita F, es sensiblemente superior a la que habíamos obtenido en ensayos anteriores con disolución de ClNa al 3,5% (6), que era de solamente $41 \cdot 10^{-3}$ meq/g. A este respecto hemos de decir tres cosas:

Primero, que el principal causante de la escasa capacidad de retención de amonio que presentan las zeolitas en agua de mar, es debido a la elevada concentración de iones sódicos, como tenemos comprobado por trabajos anteriores (5). En disoluciones de ClNa 3,5%, de análoga fuerza iónica a la del agua de mar, la concentración sódica es de 1,376% mientras que en el agua de mar es de 1,050 aproximadamente. Se puede, consiguientemente, encontrar justificado el mayor rendimiento que hemos registrado en estos ensayos en agua de mar.

Segundo, que la agitación de la disolución marina se ha llevado a cabo por burbujeo de aire, apareciendo un estado de saturación de oxígeno y unas condiciones oxidantes óptimas para la oxidación de parte del amonio, lo que incluso puede ser favorecido por la presencia de zeolita. Es decir, que la eliminación de NH_4^+ puede deberse a la retención sobre la zeolita, así como a su posible oxidación.

Tercero, que los ensayos se llevan a cabo a temperatura relativamente alta (30°C), con lo que se favorecen los procesos de retención por cambio iónico y de oxidación, a que nos hemos referido anteriormente.

En la Figura 1 se pone de manifiesto las eliminaciones a que nos estamos refiriendo, de acuerdo con la Tabla I, haciéndose visibles las notables reducciones en las concentraciones de amonio que se alcanzan en el equilibrio después de cada adición de dicho catión.

En el lecho con *zeolita 13X* se parte de agua de mar con 0,34 ppm de amonio a la que se agrega otra cantidad de dicho catión hasta tener una concentración de 9,34 ppm. A las 24 horas se efectúa otra adición de 9 mg de $\text{NH}_4^+/1$, midiéndose las concentraciones a lo largo de diversos tiempos. Los resultados están en la Tabla II.

TABLA II

Concentraciones de NH_4^+ (ppm) a diversos tiempos y adiciones, en lecho de zeolita 13X.

Tiempos	Concentraciones				Adiciones
	C_1	C_2	C_3	\bar{C}	
0 horas	0,32	0,37	0,33	0,34	9,34
5	8,60	8,61	6,65	8,62	
20	7,25	7,20	7,16	7,20	
24	7,13	7,10	7,16	7,13	16,12
30	14,92	15,12	15,02	15,02	
44	14,00	13,78	13,65	13,80	
48	12,00	12,10	11,98	12,03	

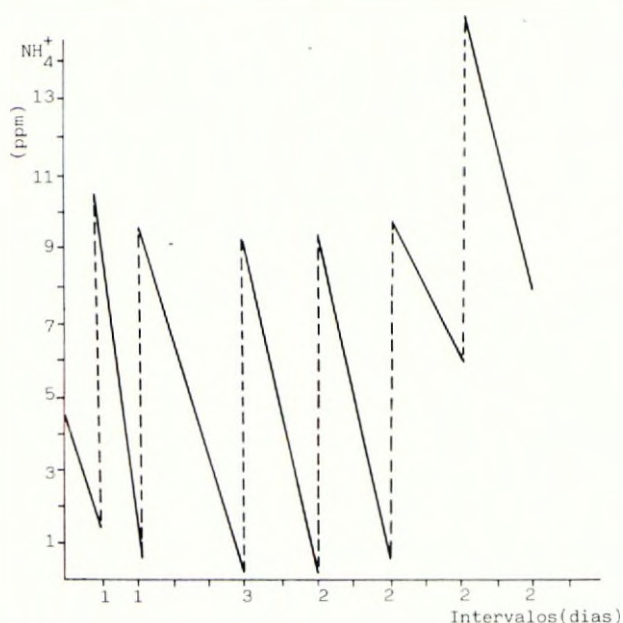


Figura 1.- Eliminaciones de amonio en lecho con zeolita F y sucesivas adiciones de dicho catión.

Como puede apreciarse, los niveles residuales que se obtienen son excesivamente altos y la eliminación insatisfactoria. De todos modos, se produce una retención efectiva con reducciones de 2,22 mg NH_4^+ /l y de 4,09 mg NH_4^+ /l respectivamente cada día, con lo que se consigue reducir sensiblemente el contenido de iones NH_4^+ de la disolución. Traducidos a meq/g, las retenciones anteriores significan $12 \cdot 10^{-3}$ meq/g y $23 \cdot 10^{-3}$ meq/g. La primera cifra es del mismo orden pero algo mayor, que la que habíamos encontrado anteriormente en otro trabajo con esta zeolita (6), lo que está de acuerdo con lo que dijimos anteriormente sobre la zeolita F. La segunda cifra es casi el doble, debido sin duda a la mayor concentración amónica de equilibrio.

En la Figura 2 se expresan de manera simplificada los dos procesos de adsorción que tienen lugar en las 48 horas indicadas. En ambos se aprecia alta concentración final de NH_4^+ pero también sensible retención de dicho catión.

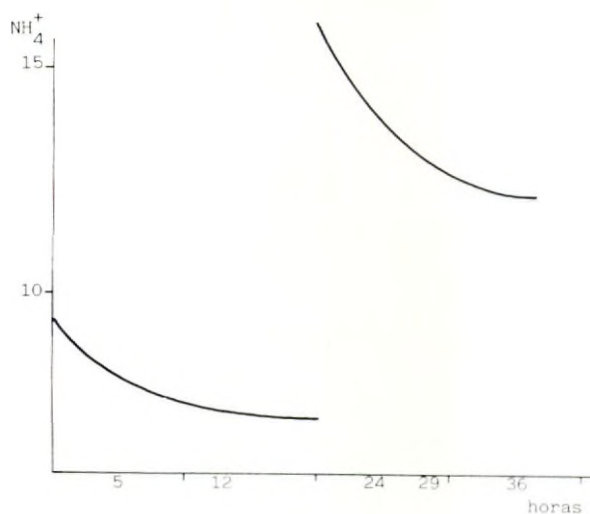


Figura 2.- Concentración de NH_4^+ (ppm) en función del tiempo, a lo largo de los dos procesos de adición, en lecho de 13X.

En la Tabla III se expresan los niveles de amonio alcanzados con cada zeolita en las disoluciones (ppm) de los diversos ensayos, así como sus respectivas retenciones (meq/g).

TABLA III

Concentración amónica (ppm) y retención (meq/g) alcanzados con zeolitas F y 13X.

Ensayo	Zeolita F		Zeolita 13X	
	Concent.	Retenc.	Concent.	Retenc.
1	1,38	—	7,12	$12 \cdot 10^{-3}$
2	0,52	—	12,03	$23 \cdot 10^{-3}$
3	0,17	—	—	—
4	0,17	—	—	—
5	0,69	—	—	—
6	5,69	—	—	—
7	7,76	$220 \cdot 10^{-3}$	—	—

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- YANG, W.T. y otros; Mar. Chem., 8 (1989), 47.
- 2.- WICKINS, J. F.; Aquacultural Engineering, 4 (1985), 155.
- 3.- POXTON, M.G. Y ALLOUSE, S.B.; Aquacultural Engineering, 6 (1987), 301.
- 4.- MUMPTON, F.A. Y FISHMAN, P.H.; J. of Animal Science, 45,5 (1977), 1188.
- 5.- LOPEZ RUIZ, J. Y GOMEZ GARRUDO, M^a E.; XI Encontro da Sociedade Portuguesa de Química, Lisboa (1988).
- 6.- LOPEZ RUIZ, J.; Las zeolitas y el amonio en la acuicultura Marina (I), Trabajo realizado con Ayuda Excm. Diputación de Cádiz (1988).

PRODUCCION DE AMONIO EN LA DESCOMPOSICION DE PIENSOS PARA PECES: ACCION DE LAS ZEOLITAS

J. López Ruiz y J. Pérez Sánchez.

Grupo Investigación Zeolitas-Acuicultura. EUIT Navales. Universidad de Cádiz.

RESUMEN.

La descomposición del alimento proteínico es una causa de la presencia de amonio en sistemas acuícolas. Con objeto de prevenir el efecto de este $\text{NH}_4(+)$, ensayamos la acción de zeolitas y comprobamos sus buenos rendimientos.

SUMMARY.

The proteinic food decomposition is a cause of the ammonium presence in aquaculture systems. In order to prevent the effect of the $\text{NH}_4(+)$ we try the action of the zeolites and prove their good yield.

INTRODUCCION.

La presencia indeseada de amonio es un tema de gran interés por los efectos nocivos que produce sobre los peces (1), siendo necesaria su eliminación de las aguas de cultivo. El origen de dicho amonio acuícola es doble. Por una parte procede de las excreciones de los peces (2) y por otra parte de la descomposición de las proteínas contenidas en los excesos de alimentos no consumidos (3).

Como producto eliminador de amonio se encuentran las zeolitas, que han sido ensayadas con éxito en sistemas cerrados de aguas de ríos (4), mientras que en aguas de mar su utilización eficaz resulta más problemática por la alta concentración salina de ésta, cuyos cationes principales entran en competencia con el amonio en los procesos de sorción (5).

Para estudiar este problema de la eliminación amónica del agua del mar por medio de zeolitas, nosotros tenemos efectuados unos estudios (6) conducentes a determinar aquellas variedades —sintetizadas en nuestro laboratorio o comerciales— que presenten mayor especificidad para la retención del amonio del agua del mar.

En el presente trabajo queremos conocer la incidencia que en la producción de amonio procedente de la descomposición de piensos para peces, produce la presencia de una zeolita que ha demostrado su eficacia en la retención del mencionado catión (6). A tal fin experimentamos suspensiones de diversas cantidades de zeolita y de pienso, en una disolución salina —aproximación al agua de mar artificial—, para analizar las cantidades de NH_4^+ que se producen en diversas condiciones experimentales.

MÉTODOS Y MATERIALES.

Para realizar este estudio analizamos la cantidad de amonio producido en función de varias variables: presencia o ausencia de zeolita, temperatura, concentración del pienso, cantidad de zeolita y burbujeo de aire.

Con este objeto colocamos en suspensión diversas cantidades de piensos comerciales cuya composición describimos más adelante, en disolución de ClNa 35‰ con objeto de simular un medio de composición artificial simplificada y fuerza iónica similar a la del agua del mar.

La zeolita que ensayamos es la variedad F Linde en polvo, que ha demostrado eficacia en la retención de amonio, utilizándola en cantidades variables que oscilan entre 5 y 100% del peso del pienso ensayado. También, en una ocasión, se agregó en mucho mayor cantidad, constituyendo un lecho en el fondo del vaso del ensayo, a razón de 2,5% de la disolución. Igualmente, se han ensayado testigos sin zeolita.

Los experimentos han sido llevados a cabo con agitación intermitente para provocar la uniformidad de la suspensión, cada vez que se ha realizado un análisis de amonio para conocer su concentración. La temperatura ha sido de 20°C en una serie de ensayos y de 30°C en los demás, disponiéndose para ello del correspondiente baño termostático.

Las distintas concentraciones de pienso que se han ensayado han sido de 0,1 g, 1 g y 10 g por litro de disolución. En una ocasión se ha realizado un burbujeo de aire para mantener saturación de oxígeno y condiciones óxicas.

Se han utilizado dos clases de piensos comerciales: Tetra Fin (TF) y Cichlid (CI), cuyas composiciones son las siguientes:

TF = 38% proteínas, 6% grasas, 6% minerales, 2% celulosa y 10% de humedad.

CI = 41% proteína bruta (mínimo), 8% grasa bruta (mínimo), 5% ceniza bruta (máximo) y 10% humedad.

Todos los ensayos han sido llevados a cabo por triplicado y utilizados los resultados de sus valores medios. La duración de los mismos han variado entre 50 y 120 días, según los casos.

Los análisis de amonio para el control de su concentración, se han efectuado por el método del indofenol (7). En algunos ensayos se han efectuado determinaciones de pH. En todos, por otra parte, se ha cuidado una iluminación natural uniforme, rotando la situación de los frascos en ensayo para lograr dicha uniformidad.

En el Cuadro de Tablas que sigue, exponemos las distintas condiciones y concentraciones con que hacemos intervenir a las distintas variables en los diferentes grupos de ensayos.

CUADRO DE TABLAS.— Sin zeolita (s), 25, 50 y 50 y 100% zeolita F.

TABLA	T(°C)	zeolita	cantidad pienso	burbujeo
I	20	s, 25, 50, 100	TF: 1g/l	No
II	20	s, 25, 50, 100	Cl: 1g/l	No
III	30	s, 5, 10, 25	TF: 10g/l y 50g/l	No
IV	30	s, 5, 50, 100	TF: 1g/l	No
V	30	s	TF: 1g/l	Si
VI	30	2,5% volu. total	TF: 1g/l	No

RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION.

En las Tablas I, II, III, IV, V y VI se indican los resultados obtenidos en los distintos grupos de ensayos. Cada Tabla va encabezada por un texto en el que se detallan las condiciones en que se realizan, de acuerdo con la programación que se hace en el cuadro de Tablas descrito anteriormente.

TABLA I

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 1 g pienso TF/litro, en disolución ClNa 35‰, sin zeolita (s), con 25%, 50% y 100%, a 20°C.

Días	s	25	50	100
2	0,5	0,5	0,6	1,0
14	0,8	1,3	2,0	1,7
20	1,8	2,3	2,5	4,0
35	2,4	2,8	5,0	12,5
40	3,1	4,2	6,6	13,3
50	4,5	9,0	9,3	14,2
56	5,2	10,8	11,1	14,5
70	6,2	—	9,7	13,0
90	3,4	—	8,2	9,2

TABLA II

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 1 g de pienso CI/litro, en disolución C1Na 35‰, sin zeolita (s), con 25%, 50% y 100% en zeolita del peso del pienso, a 20°C.

Días	s	25	50	100
7	0,7	0,5	0,7	2,0
14	0,8	1,0	4,8	4,3
28	7,9	7,8	11,0	10,0
50	16,1	17,0	17,0	12,0

TABLA III

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 10 g de pienso TF/litro (a) y 50 g pienso TF/litro (b), en disolución C1Na 35‰, sin zeolita (s) y con zeolita al 5%, 10% y 25% de la cantidad de pienso, a 30°C.

	Días	s	pH	5	pH	10	pH	25	pH
(a)	3	1	—	1	—	—	—	1	—
	10	5	6,00	25	6,10	15	6,35	14	6,10
	17	8	6,45	42	6,43	19	6,60	16	6,63
	22	50	6,50	70	7,05	63	7,07	48	6,82
	40	71	—	88	—	78	—	68	—
	45	90	—	105	—	100	—	80	—
	50	100	—	110	—	110	—	90	—
	60	113	—	127	—	120	—	93	—
	70	120	6,92	123	7,81	123	7,26	95	7,58
	85	128	—	152	—	132	—	101	—
	90	128	—	150	—	135	—	110	—
	100	122	—	145	—	122	—	95	—
(b)	3	3	—	2	—	2	—	1	—
	10	—	6,23	20	5,72	16	5,62	—	6,11
	17	68	6,02	31	5,81	30	5,91	54	6,23
	22	216	6,27	133	6,34	125	6,05	200	6,27
	40	—	—	225	—	175	—	300	—
	45	367	—	307	—	227	—	333	—
	50	400	—	350	—	250	—	375	—
	60	422	—	431	—	300	—	430	—
	70	483	6,65	517	7,13	345	6,56	448	7,14
	85	508	—	593	—	406	—	491	—
	90	508	—	635	—	363	—	495	—
	100	424	—	593	—	—	—	491	—

TABLA IV

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 1 g de pienso TF/litro, en disolución ClNa 35%, sin zeolita (s) y con zeolita al 5%, 50% y 100% de la cantidad de pienso, a 30°C.

Días	s	5	50	100
1	1	1	1	1
7	2	2	3	2
14	4	4	6	2
21	12	11	14	7
35	42	43	52	33
45	60	66	73	44
55	78	88	54	62
65	87	97	101	80
75	108	115	117	89
85	101	107	116	104
95	33	41	40	38
120	15	23	22	20

TABLA V

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 1 g de pienso de disolución ClNa 35%, sin zeolita, con burbujeo de aire, a 30°C.

Días	1	3	7	10	14	18	28	35	48	52	61
Conc.	1	27	72	83	72	71	55	35	31	18	16
	71	75	85	105							
	15	15	15	8							

TABLA VI

Concentración de NH_4^+ (ppm) producido en función de los días, con 1 g de pienso TF/litro de disolución ClNa 35%, con zeolita al 2,5% del volumen total, a 30°C.

Días	1	3	7	10	14	18	21	28	35	48	52	59	61
Conc.	1	2	7	12	17	17	18	24	17	17	17	17	17
	71	75	85	105									
	15	16	15	8									

En la consideración de los anteriores resultados encontramos:

a) La presencia de zeolita en pequeñas cantidades parece que estimula la producción de amonio, mientras que si se encuentra en cantidades mayores, efectúa una retención del mismo. Está comprobado en los resultados que constituyen las Tablas I, II, III y IV.

b) Así, en la Tabla III (a) se aprecia que la concentración relativamente alta de zeolita, es capaz de producir cierta retención de amonio, mientras que en la Tabla IV se advierte que las pequeñas cantidades de zeolita no llegan a retenerlo. En ambos casos, la presencia creciente de zeolita aumenta la producción de NH_4^+ hasta que la concentración de aquella efectúa también una simultánea eliminación. Ello se debe a la posible existencia de dos mecanismos diferentes que propician las zeolitas: uno catalítico y otro de cambio iónico.

c) En los ensayos que comprenden la Tabla III (a) hay diez veces más cantidad de pienso que en los de la Tabla IV pero también mayor cantidad de zeolita, por lo que la producción de amonio es similar en ambos ensayos. De todos modos va a resultar importante conocer la posible influencia de dichas zeolitas en el mecanismo de transformación de NH_4^+ a NO_2^- , que estudiamos actualmente.

d) El tiempo necesario para la obtención de la concentración máxima de NH_4^+ es similar en los ensayos realizados en condiciones similares, como ocurre con los de las Tablas III y IV, a 30°C. Dicho tiempo está comprendido entre 80 y 90 días. A solo 20°C y sin zeolita, el tiempo es análogo, siendo menor con zeolita (Tabla I). Con altas concentraciones de zeolitas (2,5% del volumen), se necesitan solo 28 días para el máximo amónico (Tabla VI).

e) La temperatura parece tener una notable influencia en la producción de amonio. De acuerdo con los ensayos de las Tablas I y IV, dicha producción aumenta sustanciosamente con la temperatura: a 20°C se producen 12 ppm y a 30°C ppm, en ambos casos sin zeolita, a los 70 días.

f) En la Tabla V se indican los resultados habidos en ambiente óxico producido por burbujeo continuado de aire. Estos ensayos pueden ser comparados con los sin zeolita de la Tabla IV. Se aprecia que la presencia de O_2 tiene dos efectos en la producción de amonio: a) El tiempo para conseguir concentración amónica máxima, se reduce sensiblemente, pasando de 75 días a 10 días; b) La concentración amónica máxima desciende de 107 ppm a 83 ppm, posiblemente por la mayor facilidad de oxidación a NO_2^- que proporciona el ambiente óxico.

g) La presencia del lecho que se produce en el fondo del vaso de ensayo cuando se agrega zeolita en grandes cantidades (2,5% del volumen de la disolución), con agitación intermitente, ocasiona notable retención de amonio. Esto se deduce de los resultados de la Tabla VI, en los que aparecen 24 ppm de concentración máxima, frente a los 107 ppm de la Tabla IV.

h) En la Tabla III (a) y (b), se encuentran los valores de pH que hemos registrado en estos ensayos. En todos los casos se han acusado aumentos a lo largo del tiempo, anotándose pH = 5,6 como valor más bajo y pH = 7,8 como más alto, correspondientes a ensayos diferentes. Para un mismo ensayo, el incremento máximo ha sido de $\Delta pH = 1,7$.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- LEONARD, D.W.; Natural zeolites, Paper to British Zeolite Ass. (1980).
- 2.- GUERIN-ANCEY, O.; Aquaculture, 9 (1976), 71.
- 3.- MUMPTON, F.A.; Natural zeolites: A new industrial mineral commodity. En «L.B. Sand y F.A. Mumpton (Editors); Natural zeolites, Pergamon Press, Elmsford, N.Y. (1977)».
- 4.- MUMPTON F.A. y FISHMAN, P.H.; J. of Animal Science, 45,5 (1977), 1988.
- 5.- LOPEZ RUIZ, J. y GOMEZ GARRUDO, M^a E^a; Procesos zeolíticos de cambio amónico, XI Encontro da Soc. Portuguesa de Química, Lisboa (1988).
- 6.- LOPEZ RUIZ, J.; Las zeolitas y el amonio en la acuicultura marina, Trabajo Ayuda Diputación de Cádiz (1988).

RESISTENCIA A LA CORROSION MARINA DE ELECTRODEPOSITOS DE NIQUEL

E. Julve.

Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra (Barcelona).

RESUMEN.

En el presente trabajo se estudia el comportamiento de los electrodepositos de níquel brillante frente a la corrosión marino-industrial en una zona del litoral costero catalán. El estudio se ha realizado durante un período de dos años (desde Enero de 1986 a Diciembre de 1987) utilizando probetas llevando diferentes espesores de níquel electrodepositado. Los resultados se han evaluado mediante el sistema ASTM utilizando un «rating number» y mediante estimación por pérdida de peso. Se discute la corrosión observada teniendo en cuenta la presencia en el medio ambiente de los contaminantes cloruros y dióxido de azufre, aceleradores de la corrosión.

SUMMARY

There are relatively few reports on corrosion resistance of nickel coatings in industrial-marine environments, specially in Spain, country with a large extension of sea-coasts. In this work, the corrosion behaviour of nickel coatings deposited on iron has been studied and devaluated for three, six, twelve, eighteen and twenty four months of outdoor exposure in a sea side site of Spanish N.E. coast. The nickel thickness of coatings and its structure have been correlated with its corrosion resistance, as well as the presence of chlorides and sulfur dioxide in the atmosphere.

INTRODUCCION.

Los recubrimientos de níquel depositados por vía electrolítica se han utilizado y se siguen utilizando en una gran extensión para prevenir la corrosión de piezas de hierro y acero en distintos ambientes, tanto urbanos como rurales y tanto marinos

como marino-industriales, propios estos últimos de países con un gran contorno costero, como es el caso de España. Estos recubrimientos de níquel, a la vez que protegen a esas piezas de la corrosión, les confieren un aspecto blanco y brillante, sumamente decorativo e imprescindible para un gran número de utilizaciones.

El comportamiento de estos recubrimientos ha sido estudiado en una cierta cuantía en ambientes interiores o exteriores no demasiado agresivos, correspondientes a zonas urbanas o rurales; pero, sin embargo, ha sido poco estudiado en ambientes costeros, urbano-costeros o costero-industriales, donde, en el último caso especialmente, además de cloruro existe en la atmósfera, como polucionante, el dióxido de azufre, acelerador de la corrosión. En lo que se refiere a nuestro país, no existe ningún dato publicado referente a la resistencia a la corrosión ambiental costero-industrial de este tipo de recubrimiento, a excepción de un estudio presentado en el VII International Congress on Marine and Fouling en el año 1988, del cual este trabajo es una continuación y ampliación (1).

En el presente trabajo se expone el comportamiento frente a la corrosión marino-industrial de probetas de acero recubiertas con níquel brillante durante un período de dos años. Este estudio se ha realizado en una zona urbano-industrial del litoral costero catalán. Durante estos dos años se ha seguido el progreso de la corrosión en probetas llevando diferentes espesores de recubrimiento níquel, habiéndose comparado esa corrosión con la que sufrieron probetas de acero desnudas sometidas a las mismas condiciones de ensayo que las que llevaban recubrimiento de níquel.

PARTE EXPERIMENTAL.

Preparación de las probetas de acero niqueladas y modo de evaluar la corrosión.

Las probetas utilizadas como metal-base estaban constituidas por acero dulce y tenían las dimensiones: 100×50×0,5 mm. Estas probetas, antes de ser recubiertas con la capa de níquel, se pulieron, se desoxidaron y se desengrasaron según el procedimiento habitual y, después de enjuagadas, se trataron en un baño electrolítico de níquel del tipo Watts, llevando aditivos de tipo orgánico, baño estudiado anteriormente por nosotros (2). Para el estudio, estas probetas se clasificaron en dos series: serie A-1 y serie A-2, según llevaran un recubrimiento de níquel de 6 μm ó de 12 μm de espesor. Una vez recubiertas con el correspondiente depósito de níquel según el espesor especificado, y después de ser convenientemente identificadas, las probetas fueron colocadas sobre un bastidor de ensayo orientado hacia el Sur, disponiéndolas con una inclinación de 45° respecto a la horizontal(3). Una vez transcurridos los períodos de exposición al ambiente urbano-industrial costero programados (tres, seis, doce, dieciocho y veinticuatro meses), las probetas niqueladas se retiraron del bastidor y se valuó su corrosión.

La evaluación fue realizada de dos maneras: por estimación mediante el sistema ASTM(4) y por estimación mediante pérdida de peso(5) (6). Por el primer procedi-

miento cada probeta se evaluó inmediatamente después del período de exposición, expresándose la corrosión observada mediante un «número de clasificación» (Rating Number). Este número está definido por la división del área corroída en diez grados (0 a 10). Un «número de clasificación» ó grado 10 significa que no se ha observado corrosión (es decir, que corresponde a un 0% de área corroída) mientras que un «número de clasificación» ó grado 0 corresponde al 50–100% de área corroída. Este número de clasificación corresponde a una función logarítmica del % de área corroída. En la Tabla I se expresan los números de clasificación ASTM correspondientes al % de área corroída. Por el segundo procedimiento de evaluación, cada probeta niquelada se limpió y se pesó antes y después de la exposición, expresándose la corrosión en cada período de tiempo en forma de «pérdida de peso», en g.dm^{-2} . Los productos de corrosión se separaron tratando las probetas niqueladas expuestas con una disolución de H_3PO_4 al 10% (vol) conteniendo como inhibidor 0,1% de alitiourea (tiosinamina), a una temperatura de 50°C y durante un tiempo de 30 minutos, enjuagando y secando después esas probetas antes de pesarlas.

Determinación de cloruros y dióxido de azufre.

Los cloruros presentes en la atmósfera fueron captados mediante el método de la «probeta de ángulo» o «teja», al decubierto, utilizando una superficie total útil de 600 cm^2 . Esta teja se dispuso según lo indicado por la normativa (7) (8). Cada mes se realizó la recogida de cloruros, que se valoraron mediante el método volumétrico de Mohr, expresándose el contenido de ellos en $\text{mg NaCl.m}^{-2}.\text{día}^{-1}$.

El dióxido de azufre presente en la atmósfera se captó mediante un cilindro de plástico especial, según lo indicado por la normativa (8) (9), instalado en una caseta de tipo meteorológico. Cada mes se determinó el dióxido de azufre, expresándolo en forma de $\text{mg SO}_3.\text{m}^{-2}.\text{día}^{-1}$.

Preparación de las probetas de acero desnudo testigo.

Para observar el progreso de la corrosión en el acero dulce desnudo se utilizaron probetas testigo, de dimensiones: 100x40x3 mm, las cuales, convenientemente preparadas (desoxidadas, pulidas y desengradas) se colocaron en el bastidor de ensayo, manteniéndose en él durante el período de tiempo programado. Transcurrido ese tiempo, se evaluó la corrosión y se expresó en forma de pérdida de peso (en g.dm^{-2}).

Ubicación de la estación de ensayo y duración de los ensayos.

Para el estudio de la corrosión en una atmósfera urbano-industrial-marina se eligió la ciudad de Badalona (próxima a Barcelona), con demostrada presencia de SO_2 y de cloruros en su ambiente. La estación de ensayo se situó a unos 150 metros de la línea del mar.

La duración del estudio abarcó dos años: desde el 1 de Enero de 1986 hasta el 31 de Diciembre de 1987.

TABLA I.

Número de clasificación ASTM según el área corroída.

NUMERO DE CLASIFICACION ASTM	% DE AREA CORROIDA
10	0
9	0,0 - 0,10
8	0,10 - 0,25
7	0,25 - 0,5
6	0,5 - 1,0
5	1,0 - 2,5
4	2,5 - 5,0
3	5,0 - 10
2	10 - 25
1	25 - 50
0	50 - 100

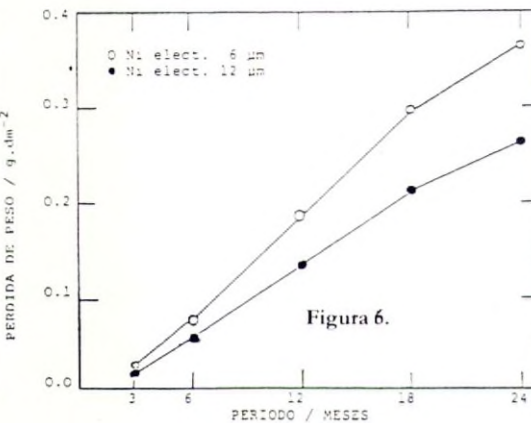
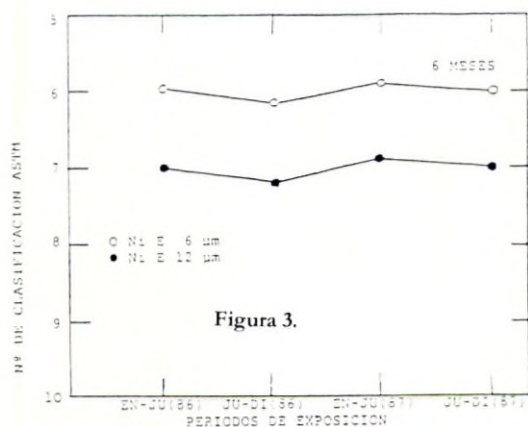
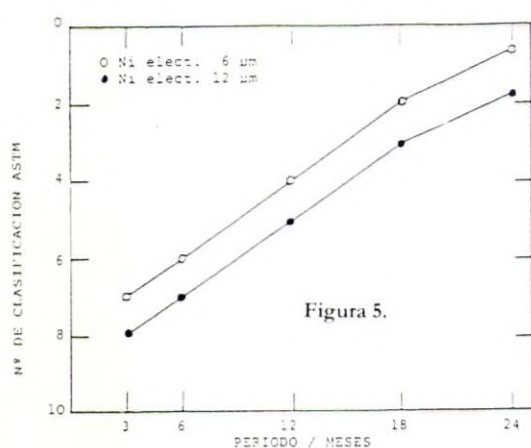
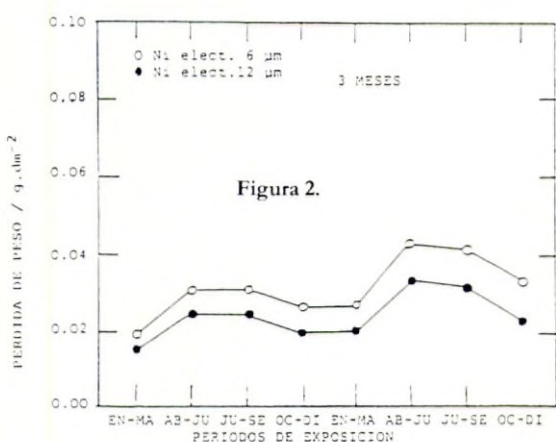
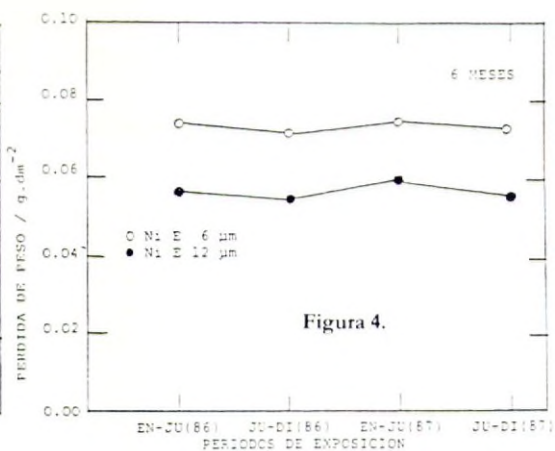
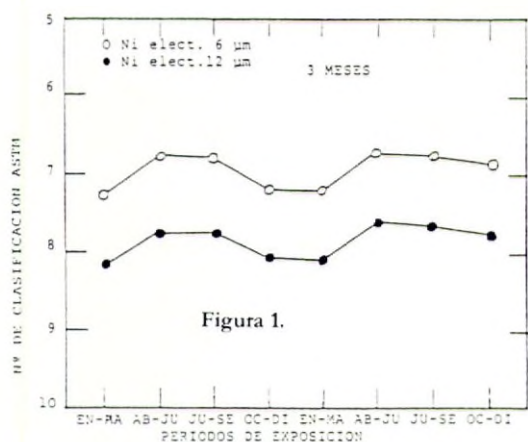
RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION.

Corrosión en las probetas niqueladas.

Los resultados correspondientes al comportamiento de las probetas de la serie A-1 (llevando 6 μm de níquel) y de la serie A-2 (llevando 12 μm de níquel) para períodos de exposición de 3, de 6 y de 24 meses se exponen en las Figuras 1,2,3,4,5 y 6. La corrosión observada se expresa en las figuras con número impar mediante el «número de clasificación» ASTM y en las figuras con número par mediante la «pérdida de peso».

Del examen de esas figuras se desprende que, en todos los períodos de exposición, la corrosión de las probetas llevando un espesor de 12 μm ha sido mucho menor que la de las probetas que llevaban un espesor de tan solo 6 μm . Este comportamiento corrobora el hecho de que una capa mayor de recubrimiento protege más eficazmente al metal-base (acero), ya que disminuye la posibilidad de que existan poros y, por tanto, aísla mejor a ese metal base del medio exterior. Por otra parte, como era previsible, la corrosión aumentó a medida que se prolongó el período de exposición de las probetas, fuere cual fuere su espesor, (Figuras 5 y 6).

También se ha observado que el grado de corrosión varió según cual fuere el mes (y la correspondiente estación del año) en que las probetas estuvieron expuestas. Así, según se puede ver en las figuras 1 y 2 (en que la corrosión se determinó por períodos de 3 meses) y en las figuras 3 y 4 (en que la corrosión se determinó por períodos de 6 meses), se ha constatado mayor grado de corrosión durante el período de

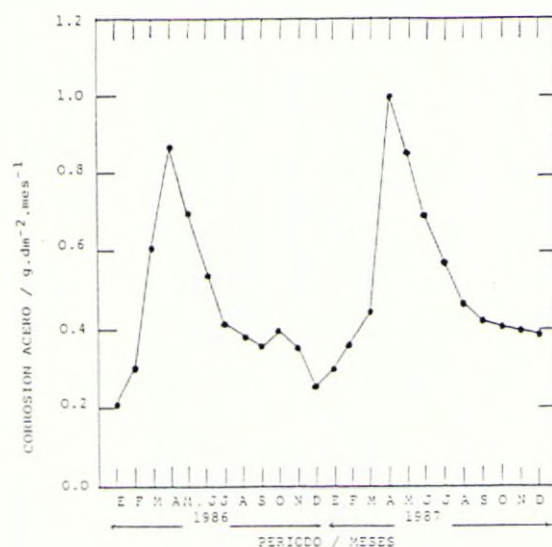


Abril a Junio y de Julio a Septiembre (casi coincidentes con las estaciones primavera y verano) que durante el período de Enero a Marzo y de Octubre a Diciembre (casi coincidentes con las estaciones invierno y otoño).

Corrosión en las probetas de acero desnudo, testigo.

En las probetas de acero desnudo, testigo, se ha producido un mayor grado de corrosión que en las probetas niqueladas, como se puede observar en la Figura 7. Así, mientras que para las probetas niqueladas el valor medio de la corrosión anual ha sido de $0,182 \text{ g.dm}^{-2}$ (para $6 \mu\text{m}$ de espesor) y de $0,132 \text{ g.dm}^{-2}$ (para $12 \mu\text{m}$ de espesor), el valor medio de la corrosión anual para las probetas de acero desnudo ha sido de 5.9 g.dm^{-2} .

También, como en el caso de las probetas llevando recubrimiento de níquel, la corrosión ha sido mayor en los meses coincidentes casi con primavera y verano que en los meses coincidentes casi con invierno y otoño.



Influencia de los cloruros y del dióxido de azufre en la corrosión.

Como consecuencia de la investigación de las concentraciones de cloruros y de dióxido de azufre en la atmósfera, se hallaron para cada período de tiempo los valores que se exponen en las Figuras 8 y 9, donde las concentraciones de esos contaminantes se dan en forma de NaCl y de SO_3 , respectivamente.

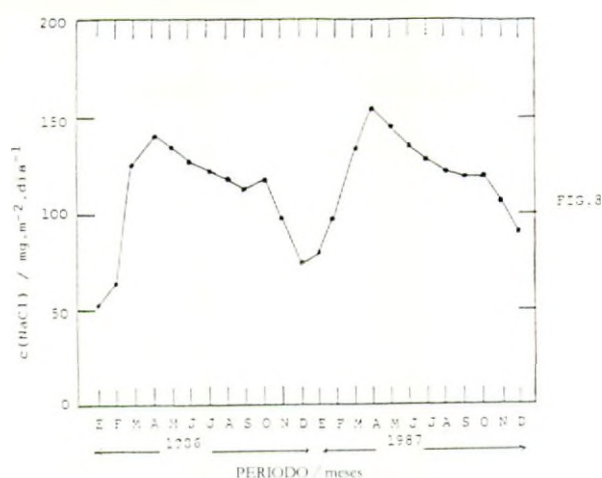


FIG. 8

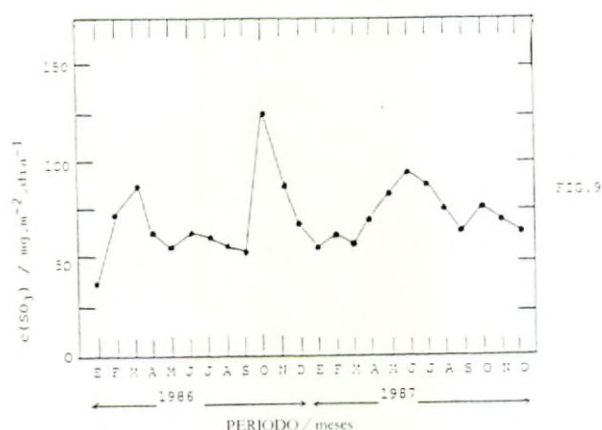


FIG. 9

Los valores medios anuales durante estos años 1986 y 1987 correspondientes a la concentración de cloruros y de dióxido de azufre han sido, respectivamente, de 160 mg NaCl.m⁻². día⁻¹ y de 60 mg SO₃.m⁻². día⁻¹.

Como se observa en la Fig. 8, las mayores concentraciones de cloruros se dieron en los meses de Marzo, Abril, Mayo, Junio, Julio y Agosto (casi correspondientes a las estaciones primavera y verano) y las menores en los meses de Septiembre, Octubre, Noviembre, Diciembre, Enero y Febrero (casi correspondientes a las estaciones otoño e invierno), resultados coincidentes con los hallados en trabajos anteriores (10) (11).

Esta mayor concentración de cloruros, acelerantes de la corrosión, hallada en los meses de primavera y verano (ayudado sinérgicamente por la presencia en algunos de esos meses de una elevada concentración de dióxido de azufre, como se observa en la Fig. 9), explicaría el mayor ataque de la corrosión producido durante esos períodos de tiempo en las probetas de acero niqueladas y en las probetas de acero desnudo, a lo que contribuirían además las altas temperaturas propias de esas épocas del año.

Al existir valores medios de humedad relativa del aire muy semejantes entre el período primavera-verano y el período otoño-invierno en la localidad donde se ha realizado el ensayo estos dos años, este factor climático parece que no es diferenciador en este caso, como podría serlo en otras localidades donde existe una marcada diferencia en los valores de humedad relativa en los mencionados períodos.

BIBLIOGRAFIA.

- (1).- JULVE, E. (1988). Proceedings of the 7th International Congress on Marine Corrosion and Fouling, Valencia (7-11 Nov. 1988).
- (2).- JULVE, E. (1986). Rev. Iberoameric. Corros. y Protec., **17** (6) 393.
- (3).- FELIU, S., VICTORI, L. JULVE, E. y otros (1984). Rev. Iberoameric. Corros. y Protec., **15** (3) 11.
- (4).- Proc. Amer. Soc. Testing Materials (1949), **49**, 226.
- (5).- CHAMPION, F.A., «Corrosion Testing Procedures» (1964). Chapman and Hall, London.
- (6).- JULVE, E. (1980), Quim. e Ind., **26** (1) 4.
- (7).- Norma alemana DIN 50907- 1952.
- (8).- JULVE, E. y COSTA, J. Ma, (1984), Rev. Iberoameric. Corros. y Protec., **15** (3) 25.
- (9).- Norma británica BS 1747, Part 4, 1969.
- (10).- JULVE, E. (1988). Libro de Comunicaciones del IV Seminario de Química Marina. Universidad Nacional a Distancia UNED, Cádiz (Enero 1988), 7.
- (11).- JULVE, E. (1989), Portugaliae Electrochimica Acta, **7**, 143.

HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETROLEO EN ESPECIES DE PECES DE CANARIAS. ESTUDIO PRELIMINAR

S. Quintero, C. Díaz y F. J. García Montelongo.

Dpto. Química Analítica. Bromatología y Toxicología. Univesidad de La Laguna.
38204 - La Laguna.

RESUMEN.

Se ha determinado la concentración de hidrocarburos alifáticos y aromáticos de 30 muestras compuestas de tres especies de peces de las Islas Canarias (*Boops boops*, *Scomber scombrus* y *Sardina pilchardus*) con objeto de determinar su grado de contaminación por derivados del petróleo. Tras saponificar y extraer con *n*-hexano, los extractos se purifican y separan en dos fracciones por cromatografía en columna de gel de sílice-alúmina. La identificación y cuantificación se llevó a cabo por cromatografía de gases y espectrofluorimetría.

SUMMARY.

The concentration of aliphatic and aromatic hydrocarbons has been determined in 30 samples belonging to three species of commercial marine fish of the Canary Islands (*Boops boops*, *Scomber scombrus* y *Sardina pilchardus*) in order to study their possible contamination from petroleum products. After saponification, the *n*-hexano extracts were cleaned up and two fractions separated on a silicagel-alumina chromatographic column. Qualitative and quantitative analysis were performed by gas saponification, the *n*-hexano extracts were cleaned up and two fractions separated on silicagel-alumina chromatographic column. Qualitative and quantitative analysis were performed by gas chromatography and spectrofluorimetry.

INTRODUCCION.

El uso del petróleo como principal fuente de energía ha provocado una situación de contaminación crónica, así como contaminaciones masivas puntuales, quizás

aún más importantes, en el medio marino. Los recientes accidentes de los buques tanque Kark 5 y Aragón han puesto de manifiesto, una vez más, la importancia de la contaminación del mar.

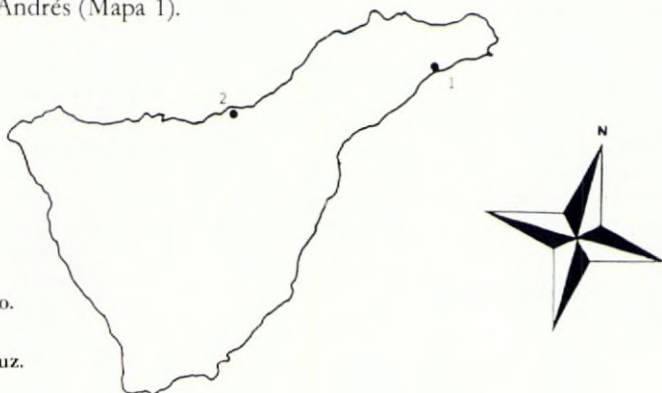
Por su situación geográfica Canarias es una zona de paso muy importante para los buques tanque, no sólo los que abastecen de crudo a la refinería de Tenerife y de productos refinados a las restantes islas y mercados nacional e internacional sino, también, para aquellos que navegan entre América y Europa y los supertanques que realizan su travesía por el Cabo de Buena Esperanza. Este elevado tráfico de buques cisterna conlleva irremediablemente, un elevado riesgo de contaminación para nuestras islas debido, fundamentalmente, a las operaciones de limpieza de tanques que efectúan estos barcos una vez descargados. Dichas operaciones deberían realizarse en aguas internacionales, pero la corriente de Canarias desplaza lenta e inexorablemente la contaminación hasta las costas de estas islas.

Los organismos vivos acumulan los hidrocarburos de origen fósil a partir del agua del mar, y los introducen en la cadena alimenticia marina. Una vez ingeridos o absorbidos por los seres vivos provocan, en determinadas concentraciones, efectos fisiológicos tóxicos letales y subletales, actuando a todos los niveles y estados de madurez de aquellos y, en definitiva, alterando el equilibrio ecológico del medio marino (1.2). Entre los hidrocarburos derivados del petróleo hay que resaltar los hidrocarburos aromáticos policíclicos por su importancia para la salud humana dadas sus propiedades cancerígenas (3-6).

El objetivo del presente trabajo es la determinación por cromatografía gaseosa y espectrofluorimetría de los niveles de contaminación por hidrocarburos derivados del petróleo, tanto alifáticos como aromáticos, en tres especies de peces de gran importancia comercial en nuestras islas.

Material y métodos:

Se tomaron 31 muestras compuestas de peces de tres especies marinas (Boops boops, Scomber scombrus y Sardina pilchardus), durante el período comprendido entre Diciembre 1988 y Mayo 1989 en dos puertos pesqueros de la isla de Tenerife, Puerto de la Cruz y San Andrés (Mapa 1).



Mapa 1.- Zonas de muestreo.
1: San Andrés.
2: Puerto de la Cruz.

Los especímenes se etiquetan y congelan a -20°C envueltos en papel de aluminio. Una vez descongelados se procede a las determinaciones biométricas (peso en gramos y tamaño en centímetros). La determinación de los hidrocarburos, se realiza en el músculo axial por lo que los peces se agrupan según pesos y tamaños y se lleva a cabo la homogeneización de los músculos de cada grupo. Se pesan entre 20–50 g del homogeneizado que se saponifican durante 8 horas con hidróxido potásico metanólico a reflujo. Una vez totalmente disgregada la materia orgánica, se añaden 200 ml de NaCl al 20% y se extrae tres veces con 50 ml de *n*-hexano. El extracto se lava, primero, con HCl al 10% y, posteriormente, con agua previamente extraída con *n*-hexano. Finalmente el extracto se seca con Na_2SO_4 anhidro.

El extracto se somete a cromatografía en una columna doble de 8 g de gel de sílice y 8 g de alúmina y se eluye una primera fracción con 25 ml de *n*-hexano (H. alifáticos) y una segunda con 50 ml con *n*-hexano–diclorometano 80:20 (H. aromáticos).

La determinación de los hidrocarburos alifáticos se realiza por cromatografía en fase gaseosa (Varian 3300) con detector de ionización de llama y una columna capilar SPB-5 15×0.32 mm. (inyector 220°C , detector 320°C , portador (N_2) 4 ml/min, columna: 3 min. a 90°C , rampa $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 280°C , 15 minutos a 280°C , y acondicionamiento 2 min. a 90°C).

Los hidrocarburos aromáticos se determinan tanto por cromatografía gaseosa, como su contenido total por espectrofluorimetría (Perkin Elmer MPF44A) $\lambda_{\text{ex}} = 310 \mu\text{m}$, $\lambda_{\text{em}} = 359 \mu\text{m}$, rendijas = $6 \mu\text{m}$, previa construcción de la correspondiente curva de calibrado usando Criseno como patrón, en las condiciones anteriormente mencionadas.

Resultados y discusión:

En la figura 1, se muestran cromatogramas tipo correspondientes a la primera fracción (H. Alifáticos) en las tres especies observándose perfectamente la presencia en ellas de todos los hidrocarburos de la serie alifática, lo que pone en evidencia una contaminación de las mismas por hidrocarburos de origen fósil. Asimismo, se puede detectar la presencia de algunos hidrocarburos de origen biológico como son el Norpristano, Pristano y Fitano.

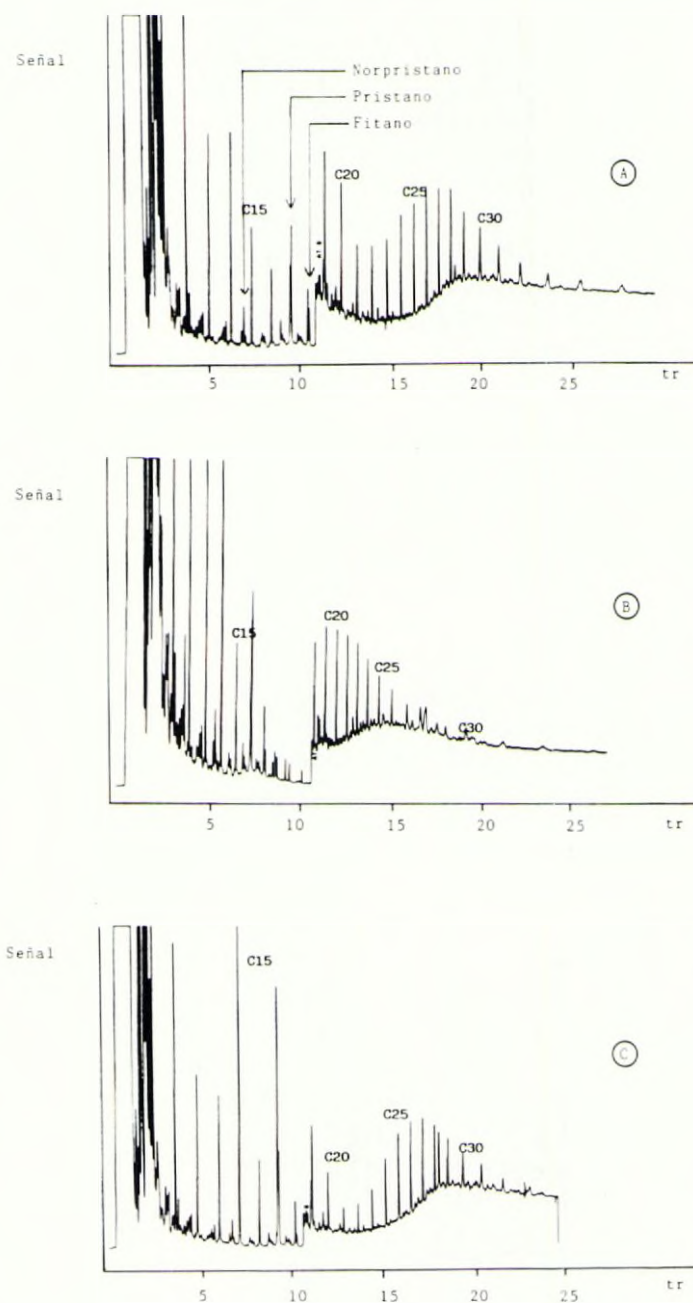


Figura 1.- Cromatogramas tipo de la 1ª fracción (H. Alif.) en: A) Boga, B) Caballa y C) Sardina.

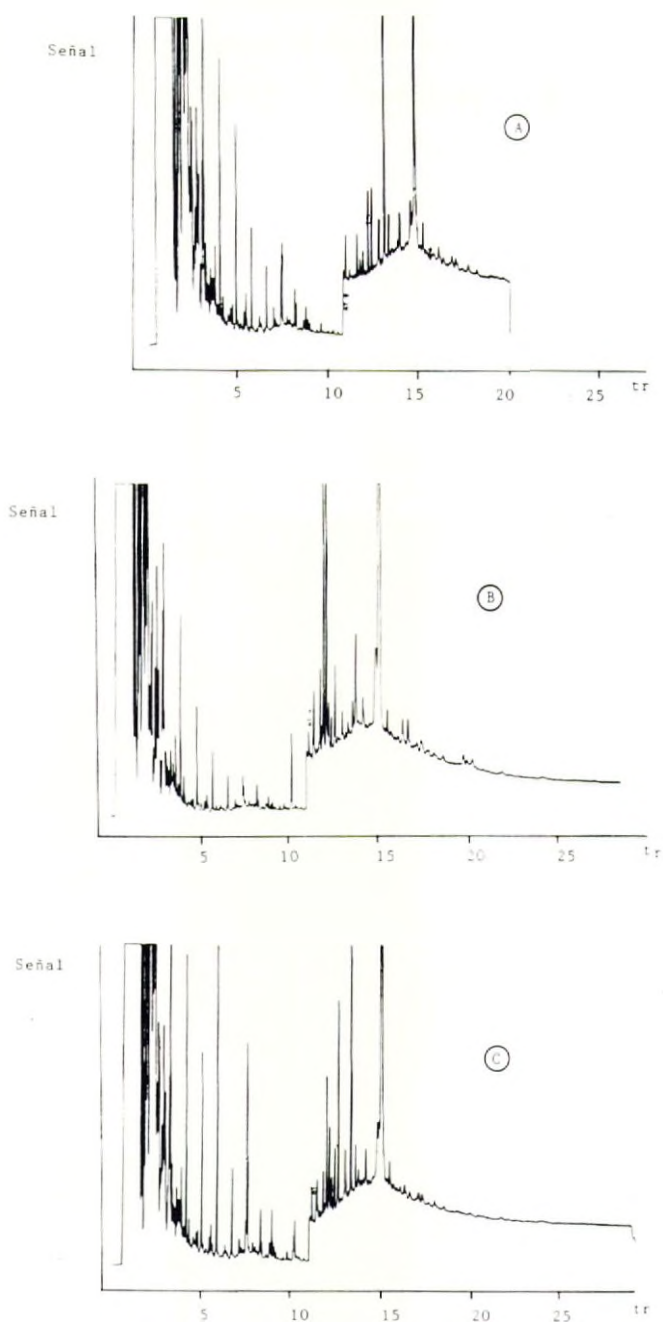


Figura 2.- Cromatogramas tipo de la 2ª fracción (H. Arom.) en: A) Boga, B) Caballa y C) Sardina.

Podemos observar también que los cromatogramas son diferentes dependiendo de las especies, lo que confirma que las distintas especies acumulan de forma diferente este tipo de hidrocarburos.

Análogamente, la figura 2 corresponde a los cromatogramas tipo de la segunda fracción para cada especie. En ella, aparte de los picos correspondientes a los hidrocarburos aromáticos, se detecta la presencia de gran cantidad de hidrocarburos alifáticos aunque en menor cuantía que en la fracción anterior, lo que evidencia la gran cantidad de hidrocarburos alifáticos que contaminan a estas especies. Podemos detectar la presencia de picos muy grandes en torno a un tiempo de retención de 15 minutos que corresponden, probablemente, a hidrocarburos tipo Benzo (a) pireno entre otros, presentes en la muestra.

En la tabla 1 se presentan los valores medios (\pm DE) correspondientes al total de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, así como para cada uno de los hidrocarburos alifáticos por separado, en las tres especies estudiadas.

En lo que se refiere a hidrocarburos alifáticos podemos observar contenidos totales próximos a $10 \mu\text{g/g}$, no existiendo diferencias significativas por especies. Estos valores son claramente superiores a los descritos por Fossato, y Siviero (8) en mejillones procedentes de la Laguna de Venecia. Sin embargo, Law (9), encuentra concentraciones de hidrocarburos alifáticos en el músculo de algunas especies de peces entre 12μ (*Hippoglossoides platessoides*) y $9,7 \mu\text{g/g}$ (*Eutrigla gurnardis*) muy próximos a los nuestros, aunque en el resto de las especies por él analizadas las concentraciones son sensiblemente inferiores ($0,048 \mu\text{g/g}$ en *Melanogrammus aeglefinus* y $1,6 \mu\text{g/g}$ en el hígado de *Pleuronectes platessa*). Otros autores (10) realizan un estudio de la concentración de hidrocarburos, en *Mercerania mercerania* y sedimentos en la bahía de Narragansett (USA), en función de la distancia al foco emisor contaminante, observando que los contenidos de hidrocarburos decrecen desde $16,0 \mu\text{g/g}$ hasta valores no detectables en un punto situado a 15 millas.

Los hidrocarburos aromáticos totales, cuantificados por espectrofluorimetría, presentan concentraciones medias 8–10 veces inferiores que las correspondientes a los hidrocarburos alifáticos, encontrándose en la sardina un valor medio sensiblemente inferior a los correspondientes a las otras dos especies (Tabla 1).

Los valores encontrados por nosotros son unas 50 veces superiores a los descritos por R. J. Law (9), pero del mismo orden de magnitud que los encontrados en mejillones procedentes del sur del mar Báltico (11).

Analizando las concentraciones de cada uno de los hidrocarburos alifáticos presentes (Figura 3), podemos observar que, en general, los primeros de la serie (C12 – C15) presentan valores superiores al resto de la serie en las tres especies. Asimismo, se observa que, en general, las concentraciones medias encontradas en *Sardina pilchardus* de cada uno de los hidrocarburos, exceptuando C15 y C17, son inferiores a los encontrados en las otras dos especies. Los valores obtenidos para los hidrocarburos alifáticos independientemente son similares a los que descritos en mejillones del mar Báltico, referidos estos últimos pasos a peso seco de muestra (11).

TABLA I

Niveles de concentración (X ± DE) de los distintos tipos de hidrocarburos en las tres especies en estudio.

N. muestras	Boops boops		Scomber scombrus		Sardina pilchardus	
	11	10,9	14	6	10,5 ±	3,5
Alif. totales *	10,8 ±	10,9	9,2 ±	6,4	10,5 ±	3,5
Arom. totales **	1,4 ±	1,3	1,6 ±	1,5	1,6 ±	1,0
C12	1293,4 ±	1304,9	778,9 ±	1086,3	596,5 ±	893,0
C13	987,3 ±	851,2	602,4 ±	776,7	345,2 ±	529,2
C14	919,0 ±	900,2	491,4 ±	523,6	833,7 ±	909,3
C15	629,9 ±	462,6	1245,1 ±	695,1	4149,7 ±	3738,5
C16	407,3 ±	339,2	319,4 ±	221,6	759,8 ±	752,8
C17	478,3 ±	598,6	389,9 ±	207,1	1717,8 ±	1424,8
C18	469,6 ±	581,5	305,4 ±	203,6	548,3 ±	651,5
C19	268,5 ±	459,4	175,8 ±	125,4	280,0 ±	245,0
C20	1571,5 ±	2455,7	359,7 ±	326,4	234,7 ±	248,0
C21	110,0 ±	87,6	245,4 ±	288,3	119,7 ±	149,2
C22	437,7 ±	638,2	218,5 ±	248,5	181,8 ±	125,1
C23	165,2 ±	170,6	275,1 ±	243,9	451,3 ±	70,7
C24	228,5 ±	248,4	437,6 ±	529,1	281,2 ±	436,1
C25	1082,7 ±	2722,0	1839,5 ±	5298,4	255,5 ±	407,6
C26	327,5 ±	370,6	179,2 ±	107,4	142,5 ±	86,0
C28	451,2 ±	359,3	416,8 ±	380,6	299,5 ±	201,7
C30	907,0 ±	771,6	437,8 ±	446,0	356,3 ±	204,1

* µg/g

** ng/g en criseno



Figura 3.- Concentraciones medias (ng/g) de hidrocarburos alifáticos.

También se pueden observar claras diferencias en lo que se refiere a la acumulación preferente de algunos de los hidrocarburos por cada una de las especies. Así, en el *Boops boops* se encuentran cantidades muy elevadas de C20, C25 y C30; el *Scomber scombrus* acumula preferentemente los hidrocarburos C15 y C25 y la *Sardina Pilchardus* acumula preferentemente el C15 y C17.

No obstante, estas conclusiones son sólo indicativas ya que para ser totalmente válidas se requiere un mayor número de muestras y más uniformes a lo largo del tiempo, puesto que las cantidades de hidrocarburos varían con la estación climática.

En la figura 4 se presentan las variaciones de las concentraciones medias, máximas y mínimas de los hidrocarburos aromáticos y alifáticos en las tres especies a lo largo del período de estudio. Puede observarse que la concentración de hidrocarburos aromáticos no varía de forma importante, no encontrándose ningún valor máximo por encima de los 5 $\mu\text{g/g}$. Los hidrocarburos alifáticos, sin embargo, varían de forma más ostensible, desde un valor medio máximo de 14,57 $\mu\text{g/g}$ correspondiente a Diciembre de 1988 a un mínimo de 5,09 $\mu\text{g/g}$ en Marzo de 1989. Esta variación es perfectamente lógica dada la variación del contenido graso en el músculo axial, debido al ciclo anual de estas especies.

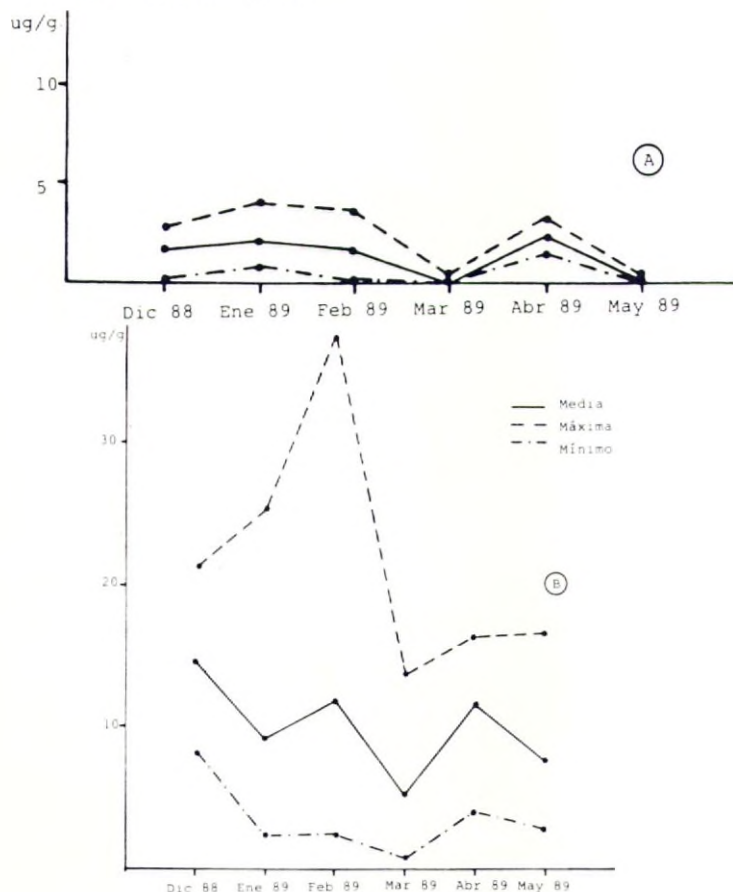


Figura 4.- Variaciones de las concentraciones medias, máximas y mínimas en el tiempo de:
A) H. Aromáticos; B) H. Alifáticos.

Los espectros de emisión de fluorescencia correspondientes a patrones (Crise-no, petróleo Quo Iboe e Irán pesado) y muestras se presentan en la figura 5. En ella se puede observar cómo la longitud de onda del máximo de emisión ($\lambda_{ex} = 310$ nm) está en torno a los 360 nm detectándose ligeras diferencias según las especies. Estos máximos coinciden, a grosso modo, con los máximos de emisión correspondientes a los pa-trones utilizados.

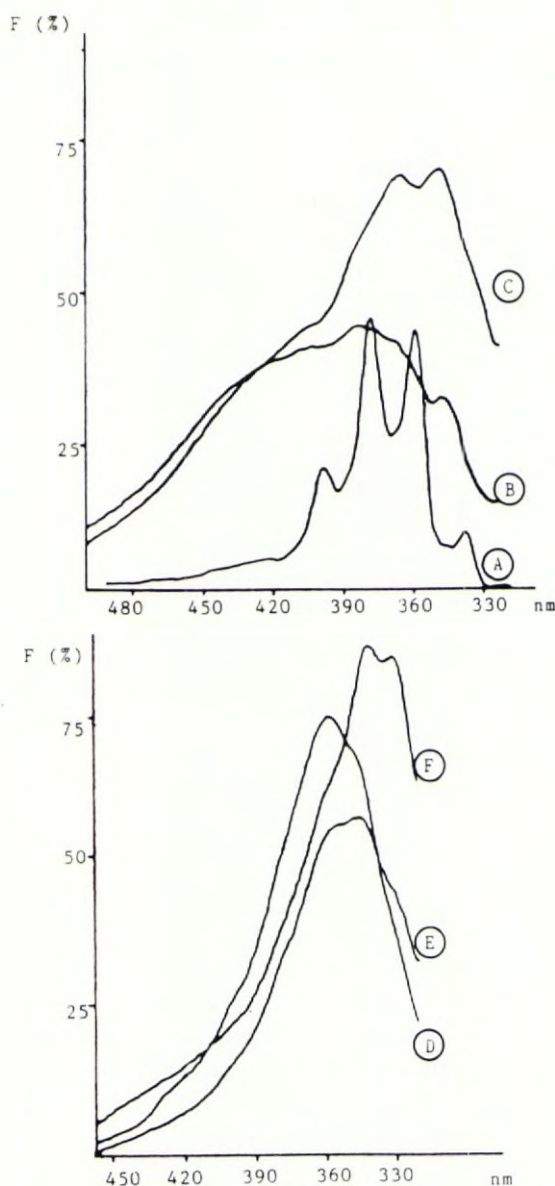


Figura 5.- Espectros de emisión de: A) Criseno, B) Petróleo Irán pesado, C) Petróleo Quo Iboe, D) Boga, E) Caballa y F) Sardina.

El estudio de correlación entre las concentraciones totales de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, así como de cada uno de los hidrocarburos alifáticos por separado frente al peso y tamaño medio de las muestras, pone de manifiesto que no existe interrelación entre estos parámetros por lo que respecta a hidrocarburos alifáticos. Sin embargo se observa una ligera interrelación entre el total de hidrocarburos aromáticos y peso o talla; es muy posible que ello sea debido al escaso número de muestras analizadas hasta el momento.

AGRADECIMIENTO.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo dentro del Proyecto DGICYT PB88-0427.

BIBLIOGRAFIA.

- (1).- V. U. FOSSATO y W. J. CANZONIER (1976). Hydrocarbons uptake and loss by the Mussel *Mytilus edulis*. Mar. Biol. **36**, 243-250.
- (2).- N. NAGARAJAH, A. J. ANTINETTE SOPHIA y T. BALASUBRAMONIAN (1985). Behaviour of some intertidal molluscs exposed to water soluble fractions of diesel. Mar. Poll. Bull. **16**, 267-271.
- (3).- V. U. FOSSATO, C. NASCI y F. DULCI (1979). 3-4 Benzopyrene and Perylene in mussels, *Mytilus* sp., from the Laguna Veneta north east of Italy. Mar. Environ. Res. **2**, 47-53.
- (4).- R. F. LEE, R. SAURHEBER y G. H. DOBBS (1972). Uptake, metabolism and discharge of PAH by marine fish. Mar. Biol. **17**, 201-208.
- (5).- R. J. PANCIROW y R. A. BROWN (1977). PAH in marine tissues. Environ. Sci. and Technol. **11**, 989-992.
- (6).- J. M. NEFF, B. A. COXS, D. DIXIT y J. V. ANDERSON (1976). Accumulation and Release of Petroleum Derived Aromatic Hydrocarbons by Four Species of Marine Animals. Mar. Biol. **38**, 279-289.
- (7).- V. U. FOSSATO y F. SIVIERO (1975). Idrocarburi alifatici in mitili prelevanti da una stazione del Golfo de Venezia, scelta quale riferimento nella valutazione del grado di inquinamento de la Laguna. Lincei. Rend. Sc. Fis. Mat. et Nat. **LVIII**, 641-646.
- (8).- R. J. LAW (1978). Determination of Petroleum Hydrocarbons in water, fish and sediments following the Ekofish Blow-Out. Mar. Poll. Bulletin. **9**, 321-324.
- (9).- J. W. FARRINGTON y J. G. QUINN (1973). Petroleum Hydrocarbons in Narragansett Bay. I Survey of Hydrocarbons in Sediments and Clams (*Mercenaria mercenaria*). Est. Coastal Mar. Sci., 71-79.
- (10).- R. J. LAW y E. ANDRULEWICZ (1983). Hydrocarbons in water, sediments and mussels from the Southern Baltic Sea. Mar. Poll. Bulletin. **14**, 289-293.

VARIACION ESTACIONAL DE LA COMPOSICION QUIMICA DE LA SARDINA (*Sardina pilchardus* Walb.) EN LA BAHIA DE CADIZ

M. J. Feliu Ortega * y R. Establier Torregrosa **

* Dpto. Química Física. Universidad de Cádiz.

** Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). Cádiz.

RESUMEN.

Se ha estudiado a lo largo del período de pesca 1988-89 la composición química de la sardina de la Bahía de Cádiz, en cuanto a contenido protéico, contenido en agua, grasa y cenizas de los tejidos.

SUMMARY.

The chemical composition of the sardines from the Bay of Cadiz is studied during the fishing season 1988-89 with regard to the protein and water amounts, as well as the ashes of its textures.

INTRODUCCION.

En la Bahía de Cádiz es habitual la pesca de especies de pequeño tamaño de la familia de los clupeidos de gran demanda en el mercado local para consumo fresco y en el mercado de la industria conservera. Las dos especies de mayor habitual captura son el boquerón y la sardina.

El presente estudio se ha centrado en la composición química estacional de la sardina de cara a su utilización en la conserva en salazón (tipo anchoización) dado que su precio en el mercado es unas cuatro veces inferior al boquerón, más utilizado en dichas conservas.

En la bibliografía revisada se han encontrado estudios similares en otras zonas de la costa peninsular pero no en concreto en la Bahía de Cádiz.

PROCEDIMIENTO Y METODO.

El estudio abarca un período de un año, desde noviembre de 1988 hasta noviembre de 1989. La recogida de muestras es aproximadamente cada veinte días dependiendo de la salida de los pescadores y de la adecuación de los ejemplares disponibles en el mercado, al estudio realizado. Durante los meses de enero y febrero de 1988 no se permitía la pesca de este especie en la Bahía por lo que no existe estudio en esos meses. En 1988 el período de prohibición de pesca se ha adelantado al mes de noviembre para mayor protección de las especies, ya que la pesca se realiza con redes de arrastre.

Para las muestras se tomaron diez ejemplares de cada lote de un tamaño comprendido entre 10.5 y 13 cm (longitud zoológica) por ser el que se podía encontrar a lo largo de todo el año y por ser el adecuado para la utilización en conserva en salmuera, emulando al boquerón. Sin embargo en la época de verano fue difícil encontrar ejemplares de la talla apropiada pues las mallas de las redes de los pescadores se amplían para recoger los ejemplares más grandes, solicitados en el mercado gaditano en esas fechas.

Los barcos de los pescadores salen a media tarde y regresan entrada la mañana estando el pescado disponible para su compra a medio día. El inicio del tratamiento de las muestras nunca fue superior a veinticuatro horas.

TRATAMIENTO EXPERIMENTAL DE MUESTRAS.

Seleccionados por la talla, diez ejemplares de cada lote, se pesaban y se anotaba la longitud (longitud zoológica) y el peso individual, obteniéndose a continuación la longitud media y el peso medio de la muestra.

Se separaban los músculos dorsales tomando uno de cada ejemplar limpio de piel y espinas. Se cortaban y mezclaban. El tratamiento de las muestras se duplica.

La humedad en tejidos se determina manteniendo la carne fresca durante 24 horas en estufa eléctrica a 90°C hasta peso constante. El % de humedad se determina por diferencia de pesada.

A partir de los tejidos desecados se determina la grasa por el método de extracción de Soxhlet con éter etílico como disolvente. El extractor Soxhlet era de 125 ml. Las muestras de unos 2 a 3 gramos se introducen en canutos cerrados de papel de filtro y el proceso se realizaba individualmente para cada muestra hasta que el disolvente pasa limpio por la muestra. Todos los procesos se alargaron hasta diez sinfonadas del disolvente. Por diferencia de pesada se determina el % de grasa en la muestra seca que luego se traduce a muestra fresca.

Para determinar proteínas se utilizó el método de Kjendahl. Como catalizador de la digestión se utilizó selenio. El amoníaco producido en la destilación posterior a la digestión se recogió sobre ácido bórico al 4% y se valoró con ácido clorhídrico 0,1N. El % de nitrógeno obtenido se transforma en proteínas mediante el factor de conversión 6,25. Se determina sobre muestras desecadas y los resultados se transforman sobre muestra fresca.

Las cenizas se determinaban por diferencia de pesada después de calcinar las muestras desecadas y desengrasadas, de un gramo aproximadamente, en horno eléctrico a 550°C durante tres horas.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Nº MUESTRA	FECHA	DÍAS	LONG. MED	PESO MED
1	8,11,88	0	11,23	13,32
* 2	23,11,88	* 15	* 14,22	* 34,14
3	7,12,88	29	11,58	15,65
4	19,12,88	41	11,22	16,51
5	2,03,89	114	12,35	18,16
6	14,03,89	126	12,95	18,39
7	6,04,89	149	11,29	15,03
8	2,05,89	175	10,54	12,33
9	17,05,89	190	11,11	13,98
10	21,06,89	225	12,9	23,46
11	20,07,89	254	12,08	19,56
12	17,08,89	282	11,89	19,11
13	6,09,89	302	10,51	14,28
14	18,10,89	344	10,99	15,1
15	6,11,89	363	11,07	12,18

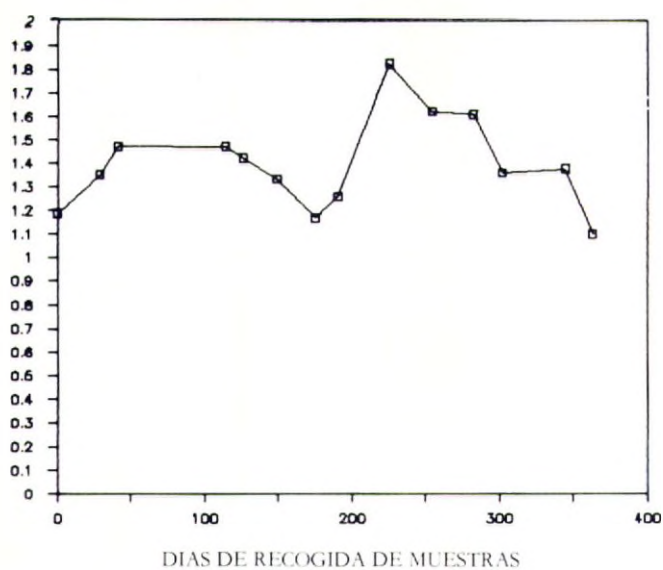
Nº MUESTRA	DÍAS	% HUMEDAD	% GRASA PS	% GRASA PH
1	0	75,2608	10,4298	2,5816
* 2	* 15	* 72,5893	* 219193	* 6,0082
3	29	77,3729	5,7961	1,3111
4	41	77,4926	5,9659	1,3424
5	114	76,8767	4,7227	1,0918
6	126	76,4097	7,4229	1,7557
7	149	76,8652	7,6892	1,7785
8	175	77,0324	8,5547	1,9651
9	190	75,9772	10,6864	2,5668
10	225	74,1796	20,1452	5,2015
11	254	72,9809	15,8647	4,2866
12	282	73,0135	19,7292	5,3229
13	302	75,7724	10,2732	2,4881
14	344	75,0496	15,8012	3,9424
15	363	75,4526	10,6491	2,6133

Nº MUESTRA	% PROT. PS	% PROT. PH	% CENI. PS	% CENI PH
1	82.28	20.36		
* 2	* 77.15	* 21.14	* 6.3009	* 1.3485
3	84.25	19.06	3.0195	0.6428
4	88.16	19.84	6.5869	1.3937
5	93.37	21.59	6.3999	1.4099
6	89.82	21.19	6.8335	1.4897
7	83.06	19.21	5.6369	1.2034
8	86.75	19.92	5.2269	1.1076
9	86.68	20.82	5.8534	1.2555
10	75.91	19.61	5.3177	1.0959
11	77.43	20.92	5.5072	1.2517
12	75.28	20.31	6.4626	1.3998
13	83.81	20.29	6.5908	1.4321
14	79.32	19.79	6.2938	1.3222
15	83.45	20.48	6.1226	1.3427

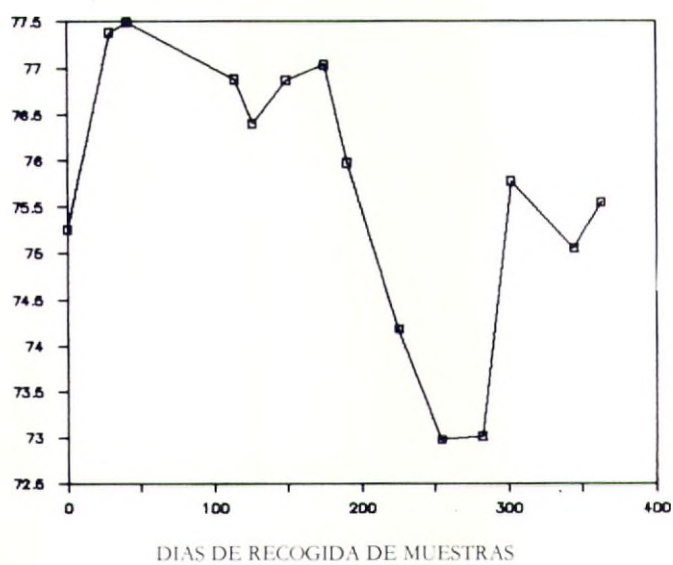
OBSERVACIONES.

La muestra nº 2 no se ha considerado en el estudio y conclusiones por haberse tomado de un tamaño de ejemplares mayor, lo que implica diferencias notables en los resultados y nos confirma que la elección del tamaño es condicionante en el estudio.

RELACION PESO A LONGITUD

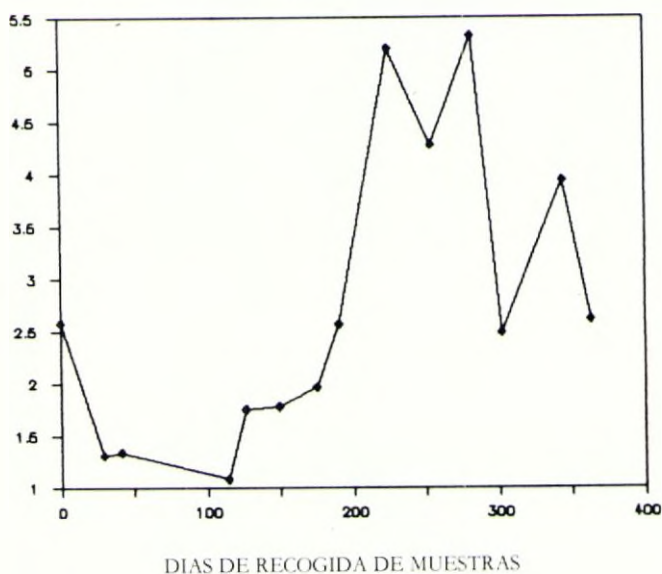


%HUMEDAD EN TEJIDOS



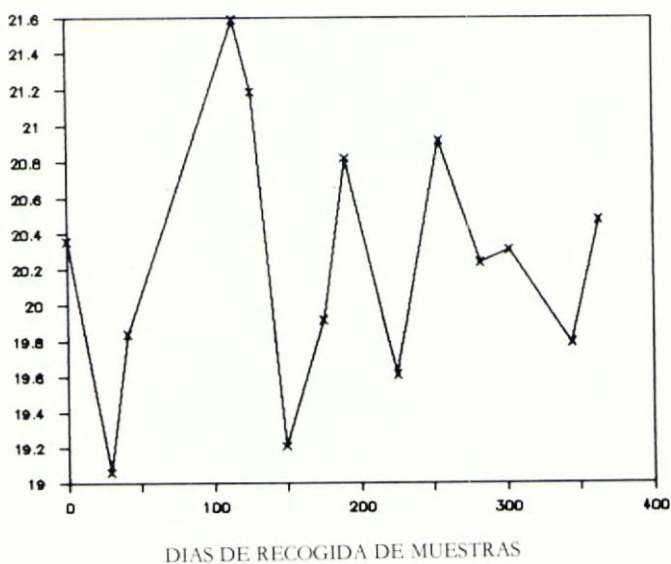
% GRASA EN TEJIDOS

referido a peso húmedo



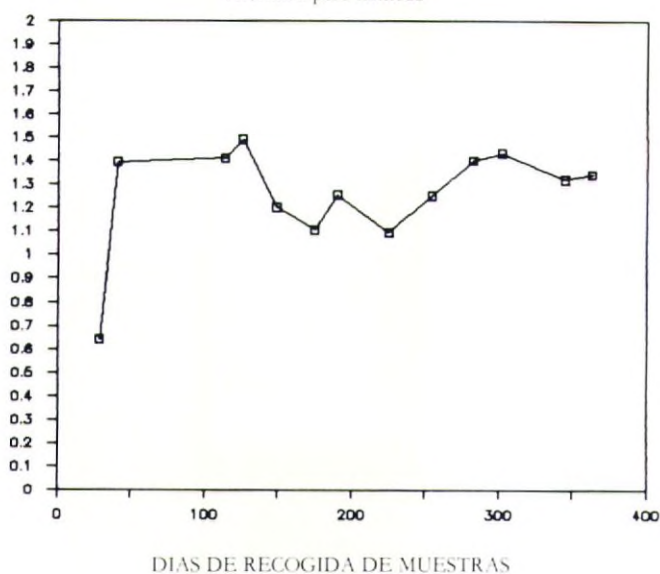
% PROTEINAS EN TEJIDOS

referido a peso húmedo



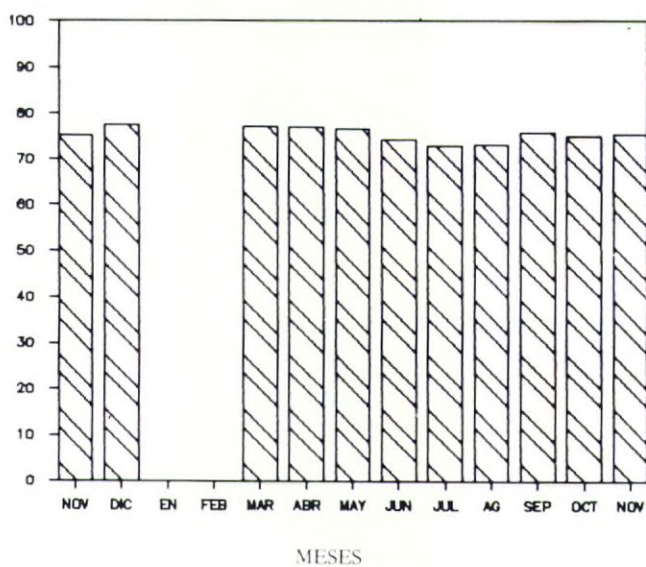
¿ CENIZAS EN TEJIDOS

referido a peso húmedo



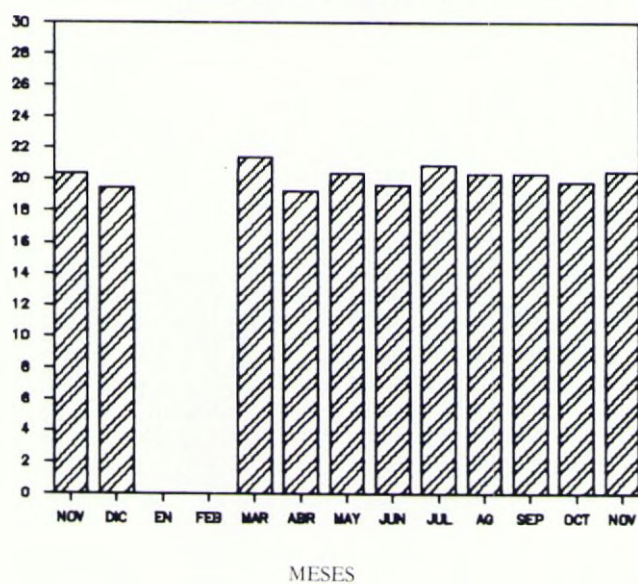
VARIACION DE LA HUMEDAD

PERIODO NOV 1988 - NOV 1989



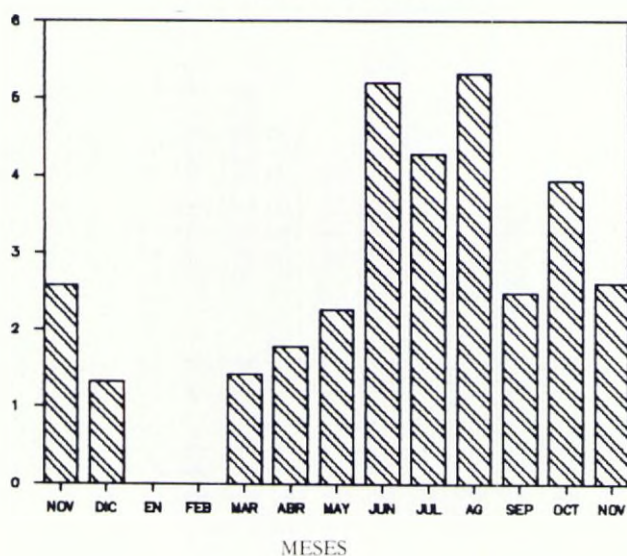
VARIACION DE LAS PROTEINAS

PERIODO NOV 1988 - NOV 1989



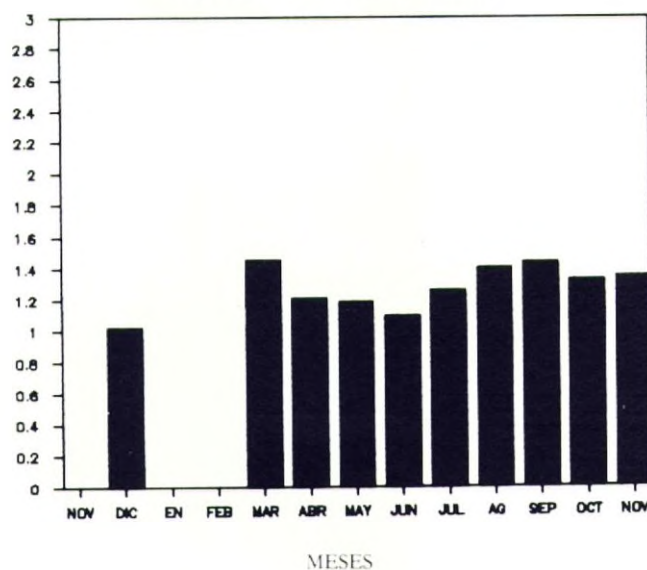
VARIACION DE LA GRASA

PERIODO NOV 1988 - NOV 1989



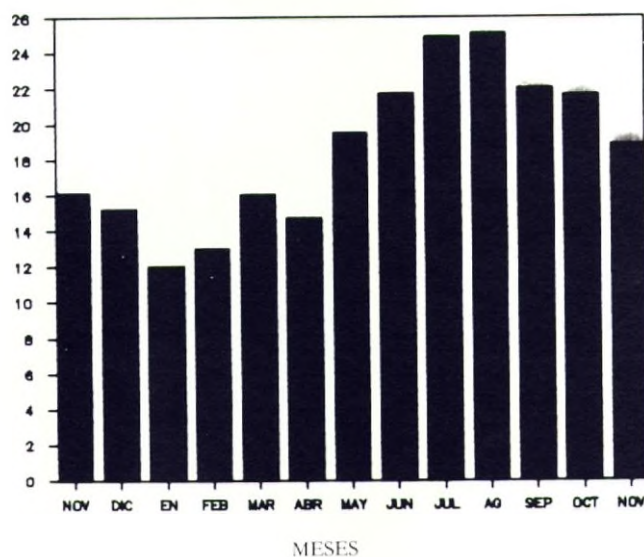
VARIACION DE LAS CENIZAS

PERIODO NOV 1988 - NOV 1989



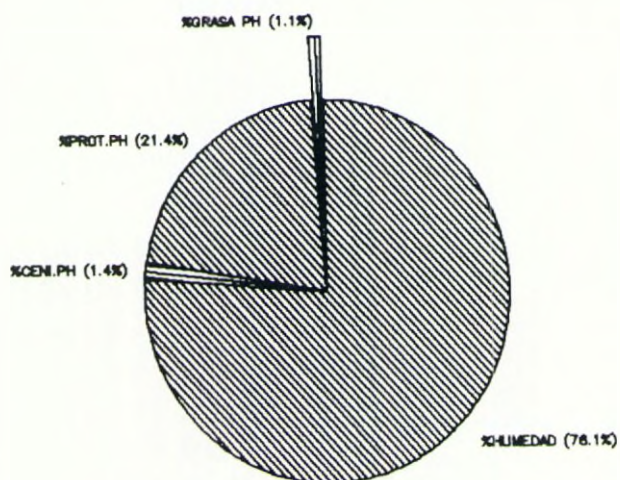
TEMPERATURA DEL AGUA DE LA BAHIA

PERIODO NOV 1988 - NOV 1989



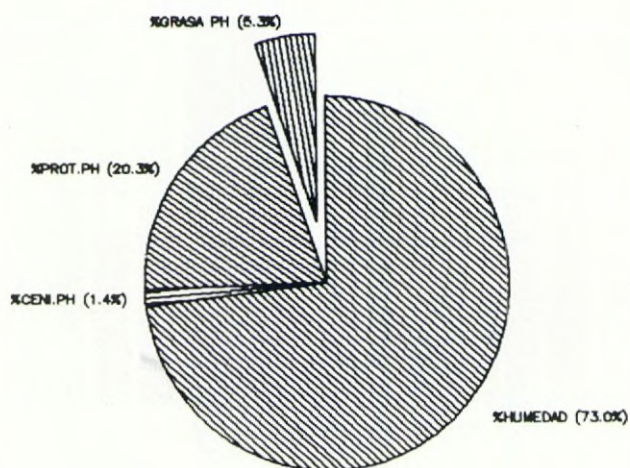
RELACION DE LOS COMPONENTES ANALIZADOS

MUESTRA N° 4 (MARZO 1989)



RELACION DE LOS COMPONENTES ANALIZADOS

MUESTRA N° 11 (AGOSTO 1989)



CONCLUSIONES.

Se observa una variación estacional muy marcada de la humedad de los tejidos y de la grasa en tejidos. No hay variación significativa de las cenizas y proteínas.

La disminución de la humedad corresponde con un aumento en la grasa en los meses de verano. La mayor cantidad de grasa corresponde a mediados del mes de agosto y después cae bruscamente.

Según la bibliografía consultada la sardina freza durante los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero lo que corresponde con la época de veda. Se podría considerar que la variación en los parámetros bioquímicos estudiados grasa y humedad están relacionados con el ciclo biológico, aumentando la grasa en verano como preparación para la freza.

Es significativa la relación existente entre la temperatura del agua del mar y la variación de la humedad y la grasa que nos hace considerar que puede influir en el ciclo biológico y por tanto en los parámetros bioquímicos.

En cuanto a las cenizas, se observa un pequeño descenso en la primavera pero no parece corresponder con las variaciones de los otros componentes, observación contraria a la realizada por Herrera y Muñoz (3).

El contenido proteico de la carne de la sardina se mantiene, por lo que en este aspecto cualquier época sería apropiada para la conserva posterior. Sin embargo de cara a cualquier conserva de tipo salazón es importante el contenido en grasa ya que esta impide el proceso de ósmosis por el que el agua de los tejidos pasa a la salmuera inhibiendo la putrefacción.

Dado que el presente estudio estaba en función de la conserva en salmuera de las sardinas se puede concluir que la época más apropiada para capturar los ejemplares destinados a este fin, a la vista de los resultados es en primavera antes de que comience el engrasamiento de los tejidos.

AGRADECIMIENTO.

Queremos hacer constar nuestro agradecimiento a D. Mariano Fernández Casal por proporcionarnos las muestras utilizadas.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- ESTABLIER, R—1963. Variación de la composición química del atún de Barba-te. Inv. Pesq. Vol. 22, p. 157-169.
- 2.- FRAGA, F—1955. Variación estacional de la composición química de la anchoa. Inv. Pesq. Vol. 2, p. 21-31.
- 3.- HERRERA, J. y MUÑOZ, F—1957. Consideraciones sobre la composición química de la sardina de Castellón. Inv. Pesq. Vol. 7, p. 33-48.

- 4.- RODRIGUEZ-RODA, J.—1955. La grasa en los peces. Puntal nº 16.
- 5.- LOZANO REY, L—1928. Fauna Ibérica, Peces. Tomo I. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- 6.- DRAKE P. y ARIAS A. M.—1984. Biología de los Mugílidos en los esteros de las salinas de San Fernando (Cádiz). Inv. Pesq. Vol. 48 p. 157-173.
- 7.- THOMSON, J. M.—1954. The organs of feeding and the food of some australian mullets. Aus. J. Mar Freshwater Res. 5.

CARACTERIZACION DE LA SARDINA MEDITERRANEA (*Sardina pilchardus*) Y SU EVOLUCION A LO LARGO DEL AÑO

J. A. Serra Belenguer e I. Escribá Roberto.

Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia.

RESUMEN.

La sardina, como los restantes pescados azules, tiene un periodo de captura estacional, comprendido fundamentalmente entre los meses de junio y septiembre. Como un primer paso para conseguir rentabilizar más su industrialización, se ha caracterizado este producto determinando su composición en: humedad, cenizas, grasa y proteínas, así como su contenido en Fe, Cu, Zn, Mn, Pb y Cd. El estudio se ha efectuado a lo largo de todos los meses del año 1989. Las muestras proceden en su totalidad de capturas efectuadas en el golfo de Valencia y desembarcadas en este mismo puerto.

Palabras clave: caracterización, sardina, humedad, ceniza, grasa, proteína, minerales.

CHARACTERIZATION OF THE MEDITERRANEAN SARDINE (*Sardine pilchardus*) AND ITS EVOLUTION ALL THROUGH THE YEAR.

SUMMARY.

Sardine, as the rest of bluefishes, has a seasonal fishing period, specially between the months of June and September. As a first step to make more profitable its industrialization, this product has been characterized determining its composition: moisture, ashes, fat and proteins, and also its content in Fe, Cu, Zn, Mn, Pb y Cd. The study has been made all along the months in 1989. All the samples come from captures carried out in the Gulf of Valencia and landed in this harbour.

Key words: characterization, sardine, moisture, ash, fat, protein, trace elements.

INTRODUCCION.

De las diferentes razas de sardina que viven a lo largo del litoral español hemos realizado este trabajo con la raza del Mediterráneo Septentrional (1), que tiene su

hábitat comprendido entre el sur de Francia y la región nororiental española, llegando mas o menos a la altura de Alicante.

Es conocido desde hace muchos años la influencia que tiene la época de captura de la sardina en su composición e incluso en la calidad de su proteína (2). Esta diferente composición tiene una repercusión importante en la estandarización de los procedimientos industriales empleados para su conservación ya sea en conserva o salazón.

El objetivo de este trabajo consiste en estudiar por un lado la variación a lo largo del año de los diferentes componentes nutritivos en la raza de sardina anteriormente citada. Esta caracterización es la primera fase de un proyecto más amplio, orientado a diseñar procesos industriales para la obtención de productos de humedad intermedia, es decir de a_w comprendida entre 0.9 y 0.65 (3), de buena calidad organoléptica. Por otro lado y dado el creciente interés que tiene el conocimiento de los niveles presentes de elementos traza en los diferentes alimentos y de una forma especial para nosotros en los alimentos marinos, (4), (5), hemos determinado los contenidos de hierro, zinc, cobre, manganeso, plomo y cadmio, en distintas partes de la sardina, comparando los resultados con los que figuran en la Legislación Alimentaria Española (6).

MATERIAL Y METODOS.

Toma de muestras.

Las muestras proceden en su totalidad de capturas efectuadas a lo largo de 1989 por embarcaciones que con base en el puerto de Valencia, realizan su labor diaria en una zona comprendida aproximadamente entre los meridianos 0 y 2 E y los paralelos 38 y 41 N.

Mensualmente entre el 10-01-89 y 11-12-89 se ha procedido a recoger las muestras de sardina en el propio puerto, en el momento de la llegada de las barcas y adquiriéndolas a bordo de las mismas con el fin de poder garantizar su procedencia.

Preparación de las muestras.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio, donde se pesaron y midieron individualmente hasta alcanzar un peso aproximado de un kilo. La siguiente fase del proceso consistió en la evisceración y separación del músculo de la fracción cabeza/espina, pesando cada uno de estos tres componentes. Estas tres porciones se sometieron por separado a trituración y homogeneización. La fracción del músculo se dividió en dos partes, en una de ellas se efectuaron las siguientes determinaciones analíticas:

- *Humedad*; El contenido de agua se determinó por desecación en estufa de vacío a 50°C hasta peso constante.
- *Proteína*; Mediante la determinación del Nitrógeno por el método Kjeldahl, multiplicando por el factor 6.25, utilizando un equipo automático sistema Tecator Analyser. (7)

– *Grasa total*: Con una extracción por el método Soxhlet, empleando así mismo un analizador automático Tecator (8).

– *Cenizas*: Se determinaron por incineración en horno mufla a 550°C hasta peso constante.

El resto del músculo y las fracciones espina/cabeza y vísceras fueron envasadas al vacío y guardadas en congelación a -20°C para la posterior determinación de los diferentes minerales. A tal fin se tomaron 2 g. de muestra y se procedió a una digestión por vía húmeda, con una mezcla de 5 ml. de agua bidestilada, 1ml. de HCl, 5 ml. de HNO₃, 2 ml. de H₂SO₄, sometándose una hora a ebullición con refrigerante de reflujo, aforando posteriormente con agua bidestilada hasta un volumen total de 50 ml. De esta disolución se determinan directamente los elementos Fe, Zn, Cu, mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con un espectrofotómetro *Perkin Elmer* modelo 2380. (9). El método permite determinar los elementos estudiados con un límite de detección de 0.69 ppm. para el Fe, 0.81 ppm. para el Cu, 0.14 ppm. para el Zn y 0.85 ppm. para el Mn. El Pb y el Cd. se determinaron por Espectrofotometría de Plasma, con un espectrofotómetro *Jovin Ivon* modelo JY24 con unos límites de detección de 40 ppb para el Pb y 0.8 ppb. para el Cd (8).

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

Como puede verse en la Tabla I, la longitud media de la sardina a lo largo de 1989 osciló entre 10.78 cm. en diciembre y 16.30 cm. en agosto, con un valor medio anual de 13.58 cm. El peso medio para este mismo año es de 8.40 g. en diciembre y 36.6 g. en agosto, siendo la media anual de 19.87 g.

La fracción comestible de la sardina es del 63.20%, siendo mayor en los meses de mayo y junio en los que alcanza valores próximos al 70%. La parte no comestible corresponde en un 25.41% a espina y cabeza, y el 6.72% restante a las vísceras.

La Tabla II recoge los contenidos en el músculo de humedad, proteína, grasa y cenizas así como la temperatura media del agua en la superficie del mar, de cada uno de los meses del año en el que se efectuaban los estudios. Estos valores son el resultado de promediar un total de doce determinaciones de cada parámetro.

TABLA I

Se observa que el valor medio anual de humedad es del 72.96% con un mínimo de 65.54% en el mes de agosto y un máximo de 78.65% en enero.

FECHA	Nº ej.	Long (cm)	Peso (g.)	% Músc.	% Esp.	% Viscer.
10-01-89	62	13.18 + 2.07	16.79 + 7.28	50.50	25.39	5.04
2-02-89	63	12.53 + 0.98	15.15 + 3.77	60.86	26.91	5.01
2-03-89	34	15.77 + 1.23	27.99 + 5.89	59.45	29.35	7.82
7-04-89	48	12.79 + 0.62	14.86 + 2.39	64.70	26.05	7.11
3-05-89	118	12.82 + 0.65	16.01 + 2.27	69.55	24.67	5.78
6-06-89	84	12.95 + 0.48	16.46 + 1.89	69.94	23.41	6.65
4-07-87	51	15.63 + 0.86	31.88 + 5.82	64.08	23.21	8.97
1-08-89	58	16.36 + 1.15	36.61 + 7.96	64.61	22.65	8.53
5-09-89	55	13.08 + 1.39	17.20 + 3.35	63.72	24.52	6.31
4-10-89	53	13.58 + 1.39	19.69 + 8.35	64.83	23.68	7.96
13-11-89	49	13.64 + 0.88	17.38 + 3.35	65.03	26.31	5.88
11-12-89	117	10.78 + 0.92	8.40 + 2.28	61.08	28.74	5.59
MEDIA ANUAL		13.58 + 0.045	19.87 + 2.33	63.20	25.41	6.72

La proteína total oscila entre un valor mínimo del 17.93% en enero hasta un máximo de 20.45% en mayo, con un valor medio anual de 19.76%. Como podemos ver en la tabla, con la única excepción del mes de enero, el contenido en este componente sufre una escasa variación a lo largo del año, con valores casi constantes en torno al 20%.

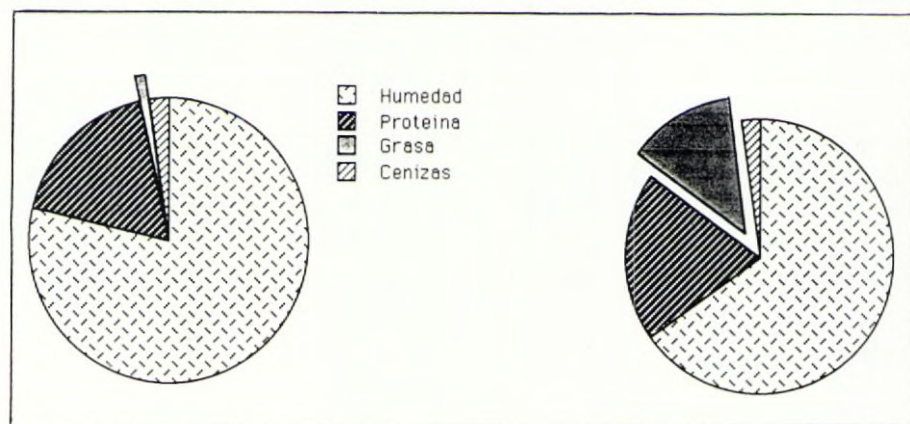


Fig 1

Fig 2

TABLA II

	Temp. °C	Humedad %	Proteína	Grasa %	Cenizas %
ENERO	12.95	78.65 ± 0.31	17.93 + 0.10	0.42 + 0.02	2.17 + 0.12
FEBRERO	12.80	77.60 ± 0.24	20.30 + 0.19	0.78 + 0.06	1.69 + 0.09
MARZO	14.73	76.26 ± 0.16	19.26 + 0.24	0.87 + 0.08	2.12 + 0.02
ABRIL	16.85	73.63 ± 0.28	20.39 + 0.14	3.58 + 0.21	1.85 + 0.08
MAYO	19.53	71.14 ± 0.55	20.45 + 0.18	6.46 + 0.38	1.08 + 0.01
JUNIO	23.95	70.17 ± 0.15	19.58 + 0.36	7.40 + 0.05	2.18 + 0.14
JULIO	27.40	66.29 ± 0.31	20.21 + 0.41	10.58 + 0.14	1.93 + 0.04
AGOSTO	27.23	65.54 ± 0.09	19.97 + 0.39	12.37 + 0.13	1.61 + 0.01
SEPTIEMBRE	25.48	71.30 ± 0.06	20.35 + 0.16	5.96 + 0.06	2.19 + 0.01
OCTUBRE	21.93	71.52 ± 0.16	20.30 + 0.18	4.17 + 0.11	2.12 + 0.05
NOVIEMBRE	18.18	76.86 ± 0.16	19.49 + 0.14	0.60 + 0.05	2.29 + 0.15
DICIEMBRE	14.85	76.61 ± 0.22	18.95 + 0.19	0.50 + 0.02	2.25 + 0.15
MEDIA ANUAL		72.96 ± 1.26	19.76 + 0.22	4.49 + 1.21	1.95 + 0.10

TABLA III (MATRIZ GENERAL)

MES	1,000	0,466	-0,071	-0,143	-0,288	0,166	0,182	0,349	0,881	-0,336	-0,096	0,655
°C agua	0,466	1,000	0,629	0,538	-0,934	0,529	0,902	-0,154	0,666	-0,152	-0,093	0,371
Peso (g.)	-0,071	0,629	1,000	0,973	-0,693	0,154	0,719	-0,166	0,111	0,209	-0,037	-0,179
Long (cm.)	-0,143	0,538	0,973	1,000	-0,575	0,113	0,594	-0,100	0,029	0,282	0,073	-0,218
Humedad %	0,288	-0,934	-0,693	-0,575	1,000	-0,581	-0,981	0,406	-0,472	0,260	0,025	-0,110
Proteína %	0,166	0,529	0,154	0,113	-0,581	1,000	0,513	-0,507	0,261	-0,006	0,245	0,371
Grasa %	0,182	0,902	0,719	0,594	-0,981	0,513	1,000	-0,470	0,402	-0,203	-0,120	0,065
Cenizas %	0,349	-0,154	-0,166	-0,100	0,406	-0,507	-0,470	1,000	0,192	0,130	-0,068	0,277
Fe (ppm.)	0,881	0,666	0,111	0,029	-0,472	0,261	0,402	0,192	1,000	-0,162	-0,126	0,728
Zn (ppm.)	-0,036	-0,152	0,209	0,282	0,260	-0,006	-0,203	0,130	-0,162	1,000	-0,100	0,319
Mn (ppm.)	-0,096	-0,093	-0,037	0,073	0,025	0,245	-0,120	-0,068	-0,126	-0,100	1,000	-0,216
Cu (ppm.)	0,655	0,371	-0,179	-0,218	-0,110	0,371	0,065	0,277	0,728	0,319	-0,216	1,000
MES	°C	PESO	LONG	H	P	G	C	Fe	Zn	Mn	Cu	

Contrariamente a la proteína, la grasa sufre fuertes variaciones a lo largo del año, oscilando entre un 0.42% en el mes de enero (Fig. 1) y un 12.57% en agosto (Fig. 2), de forma tal que podemos formar tres grupos con los meses del año; los que tienen un bajo contenido en grasa, correspondientes a noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo; contenido medio abril, mayo, septiembre y octubre y alto como son junio, julio y agosto.

El contenido en cenizas no sufre grandes variaciones a lo largo del año, alcanzando un valor medio de 1.95%.

Con los datos presentes en la Tabla II, se ha obtenido una matriz de correlaciones, Tabla III, en la que se ha observado que tan solo existe una correlación significativa y de signo negativo entre la temperatura del agua y la humedad con un coeficiente de correlación de -0.934 ; entre la grasa y la humedad con un coeficiente de correlación de 0.981 ; del mismo modo existe una correlación significativa entre la temperatura del agua y la grasa en este caso de signo positivo con un coeficiente de correlación de 0.902 .

En la Tabla IV se ofrecen las concentraciones de los elementos: Fe, Cu, Zn, Mn, Pb y Cd presentes en las fracciones de músculo, vísceras y espinas, correspondientes a los doce meses del año. Podemos decir que los metales se acumulan de forma prioritaria en espinas a excepción del Cu que presenta concentraciones algo más altas en víscera.

Para el Fe los valores máximos y mínimos correspondientes a espina oscilan entre 444.02 y 108.65 ppm; en vísceras oscila entre 573.25 y 187.08 y en músculo entre 33.76 y 104.34, con un valor medio de 76.85 para este último.

En cuanto al Cu se aprecia menos diferencias entre espinas, vísceras y músculo; en espina un máximo de 2.43 ppm y un mínimo de 0.81; en víscera 3.99 y 1.77 respectivamente, mientras que en músculo el contenido en Cu varía entre 2.63 y 0.89, con un valor medio anual de 1.62 ppm.

El Zn tiene un contenido mínimo en espina de 32.81 ppm y un máximo de 59.24; en víscera, presenta un mínimo de 25.29 y un máximo de 42.74, siendo en músculo de 12.98 y 27.81 respectivamente, con un valor medio de 21.12.

El Mn oscila entre 7.13 y 35.12 ppm en espinas; 2.56 y 20.57 en víscera y 1.29 y 6.74 para músculo con un valor medio de 2.48.

El Pb varía entre 2341.42 y 602.61 ppb en espinas, 261.91 y 714.29 ppb en víscera, mientras que en músculo oscila entre 544.55 y 125.42.

Finalmente el Cd aparece en concentraciones muy bajas para las tres fracciones, en torno a los 200 ppb con escasas excepciones en uno u otro sentido.

Observando la tabla de correlaciones, no se aprecia ninguna correlación a nivel significativo entre el contenido en metales y los demás parámetros analizados, si se exceptúa la escasamente existente entre el Fe y el mes de muestreo, con un nivel de significación del 0.881.

En conclusión podemos decir que a la vista de los resultados encontrados, los únicos parámetros que varían significativamente a lo largo del año son la humedad y la grasa, siendo por el contrario la proteína y ceniza casi constantes. El estudio de la matriz de correlaciones indica que un nivel alto de significación solo se ha encontrado entre los parámetros: temperatura del agua, humedad y contenido en grasa.

Los contenidos minerales están en todos los casos en concentraciones muy por debajo de lo que admite la Legislación Española, para el Cu (20 ppm.), Pb (3 ppm.) y Cd (1ppm.), lo que indica que en el momento actual el nivel de contaminación respecto a esos metales en esta zona del Mediterráneo no parece alcanzar niveles preocupantes.

TABLA IV

	Fe	Cu	Zn	Mn	Pb	Cd
ENERO	M 33.76 ± 6.14	0.89+0.09	20.47+1.56	1.29+0.03	147.06+0.23	81.70+0.04
	V 365.97 ± 47.72	1.87+0.18	34.68+1.12	4.40+0.57	448.50+0.34	215.95+0.07
	E 334.76+64.31	1.21+0.35	48.44+5.81	11.73+3.97	1046.51+0.04	58.14+0.04
FEBRERO	M 37.52+9.00	1.88+0.01	27.81+1.20	1.41+0.01	179.01+0.24	94.49+0.12
	V 203.31+41.37	2.93+0.56	42.74+2.21	3.33+0.23	714.29+0.02	265.78+0.02
	E 269.71+31.0	0.81+0.01	57.28+10.97	7.13+0.08	602.61+0.05	231.02+0.06
MARZO	M 47.77+1.26	1.13+0.06	25.82+0.27	4.43+0.23	390.63+0.10	203.13+0.05
	V 259.76+1.37	2.12+0.05	34.79+2.76	3.56+1.09	676.57+0.15	198.02+0.02
	E 347.96+22.17	1.14+0.04	52.81+0.39	35.12+1.31	1173.02+0.06	249.27+0.01
ABRIL	M 38.44+10.98	1.12+0.06	16.32+0.95	3.74+0.87	544.55+0.16	148.51+0.05
	V 259.76+1.37	2.12+0.05	34.79+2.76	3.56+1.09	676.57+0.15	198.02+0.02
	E 194.47+6.09	1.07+0.13	46.71+1.15	19.30+2.30	1072.61+0.08	198.02+0.04
MAYO	M 72.03+22.57	1.34+0.13	17.94+1.43	3.24+0.47	421.84+0.05	116.85+0.03
	V 239.22+33.59	1.77+0.59	25.76+5.41	3.45+0.35	532.90+0.15	131.59+0.03
	E 285.96+34.81	1.10+0.06	44.92+3.62	23.78+6.69	1364.23+0.06	204.88+0.02
JUNIO	M 86.61+0.30	1.61+0.09	22.47+0.35	—	123.42+0.14	61.71+0.03
	V 307.71+1.58	2.20+0.98	29.01+3.02	3.41+0.09	463.76+0.15	159.57+0.05
	E 377.36+12.02	2.09+0.41	50.75+0.42	9.17+0.78	2341.42+0.02	370.95+0.02

		Fe	Cu	Zn	Mn	Pb	Cd
JULIO	M	70.94 + 2.69	1.58 + 0.14	20.66 + 1.48	6.74 + 1.12	300.79 + 0.10	93.69 + 0.03
	V	187.08 + 17.08	2.89 + 0.05	25.29 + 6.89	13.87 + 0.24	421.08 + 0.04	201.15 + 0.03
	E	114.47 + 1.53	2.43 + 0.53	41.31 + 0.88	20.83 + 1.12	902.24 + 0.02	177.79 + 0.05
AGOSTO	M	73.95 + 5.58	1.55 + 0.87	20.53 + 2.29	1.55 + 0.62	279.00 + 0.10	124.06 + 0.10
	V	199.19 + 7.23	2.53 + 0.59	28.92 + 0.09	2.56 + 0.23	261.81 + 0.07	181.67 + 0.06
	E	108.65 + 5.04	1.81 + 0.97	59.24 + 2.36	12.31 + 3.87	690.71 + 0.08	184.45 + 0.02
SEPT.	M	88.39 + 4.39	2.63 + 0.71	24.20 + 2.86	2.79 + 0.07	386.76 + 0.14	728.02 + 0.01
	V	228.75 + 14.71	3.44 + 0.11	31.53 + 1.06	4.59 + 0.15	498.04 + 0.07	249.02 + 0.02
	E	126.11 + 7.39	1.73 + 0.25	46.41 + 8.61	8.29 + 0.87	1074.04 + 0.09	228.33 + 0.02
OCT.	M	104.34 + 7.12	1.68 + 0.36	17.64 + 0.02	2.40 + 0.52	266.73 + 0.04	141.23 + 0.03
	V	478.82 + 33.58	2.30 + 0.26	38.20 + 2.09	7.44 + 1.40	264.90 + 0.04	213.32 + 0.05
	E	334.02 + 34.85	1.70 + 0.13	35.36 + 3.67	13.21 + 1.24	825.00 + 0.02	186.07 + 0.03
NOV.	M	95.98 + 4.43	2.15 + 0.71	22.62 + 0.7	6.50 + 0.05	227.67 + 0.05	187.89 + 0.01
	V	573.25 + 37.70	3.99 + 0.25	29.45 + 1.15	20.57 + 0.95	375.59 + 0.02	276.47 + 0.01
	E	444.02 + 17.97	1.80 + 0.13	32.81 + 1.03	13.42 + 0.08	1099.85 + 0.03	216.20 + 0.01
DIC.	M	100.07 + 6.96	1.84 + 0.23	12.98 + 0.86	2.33 + 0.16	294.98 + 0.11	189.22 + 0.02
	V	425.64 + 29.57	3.35 + 0.47	35.51 + 2.39	6.70 + 0.93	652.61 + 0.06	214.36 + 0.03
	E	247.51 + 34.18	1.81 + 0.38	39.51 + 0.33	13.49 + 1.90	725.34 + 0.04	206.39 + 0.03

AGRADECIMIENTOS:

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Conselleria de Cultura, Educació y Ciència de la GENERALITAT VALENCIANA, por la ayuda prestada a la realización de este trabajo. Así mismo deseamos agradecer al AINIA (Asociación de Investigación de la Industria Agroalimentaria), y a la empresa Instrumentos Científicos por las facilidades dadas en la utilización de sus equipos analíticos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- LOTINA, R. (1985). Biología, Geografía y Habitat de las sardinas ibéricas. En: La Sardina un Tesoro de Nuestro Mar. pp. 73-82. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- 2.- VARELA, G.; PUJOL, A. y MOREIRAS-VARELA, O. (1962). Valor biológico de pescados de consumo en España. Book of the FAO International Conference in Fish in Nutrition. Washington D.C. 1961. Publ. Fishing News Books, London.
- 3.- KAREL, M. (1976). Technology and application of new intermediate moisture foods. En Intermediate moisture foods. R. davies, G.C. Birch & K. J. Parker eds. Applied Science Publishers. London.
- 4.- SERRA, J. A.; MARIN, E.; ESCRICHE, I. (1989). Contenido de hierro, cinc, cobre, manganeso, cadmio y plomo en mejillones (*Mytillus edulis* L.) cultivados en el puerto de Valencia. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 29 (1). 1989.
- 5.- MEDINA, J., FERNANDEZ, F., PASTOR, A., BEFERRULL, J. B. y BARBERA J.C. (1986). Determination of mercuri, cadmium, chromium and lead in marine organisms by flameless atomic absorption spectrophotometry. Mar. Pollut. Bull., 176 , 41-44.
- 6.- B.O.E. nº 152,2-Julio-1977.
- 7.- TECATOR. KJELTEC Auto Manual Part no 1000 1550, NTZ 8311, Prabin & Co.
- 8.- TECATOR. Soctec System HT6, Manual part No 1000 1590,T 1284, Prabin & Co.
- 9.- RICHARD F. PUCHYR and RUBIN SHAPIRO (1986). Determination of Trace Elements in Foods by HCL-HNO₃ Leaching and Flame Atomic Absorption Spectroscopy. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **69**, 5 868-870.
- 10.- ALFREDO SANZ-MEDEL (1984). Generación y características fundamentales de los diversos plasmas utilizados en análisis espectroquímico. Química Analítica III **4**, 245-279.

HISTOQUIMICA DE LIPIDOS EN OVARIO E HIGADO DE *Halobatrachus didactylus* (SCHNEIDER, 1801) DE LA BAHIA DE CADIZ

M^a L. González de Canales*, M. Alvarez, F. J. Fernández-Trujillo y
M^a C. Sarasquete.

* Laboratorio de Biología. Facultad de Ciencias del Mar. PUERTO REAL (Cádiz).

** Dpto. de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina de Cádiz.

*** Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (C.S.I.C.). PUERTO REAL (Cádiz).

RESUMEN.

Se estudia la distribución de lípidos en el ovario e hígado de *Halobatrachus didactylus* durante la fase vitelogénica de la ovogénesis. Destaca el contenido, exclusivamente, lipídico de los glóbulos (triglicéridos, ácidos grasos y en menor proporción fosfolípidos) y la presencia de fosfolípidos en los granos de vitelo. Lípidos ácidos y neutros están presentes en los hepatocitos.

SUMMARY.

LIPIDS HISTOCHEMISTRY IN OVARY AND LIVER OF *Halobatrachus didactylus*. This study deals with the distribution of lipids in the ovary and liver of toadfish. *Halobatrachus didactylus* S. during the vitellogenic phase of the oogenesis. The content of the globules (vacuoles) is exclusively lipidic (triglycerids, fatty acids and in a lesser amount phospholipids) and phospholipidic in the yolk granules. In the hepatocytes, neutral and acidic lipids are present.

INTRODUCCION.

El papel que desempeñan los lípidos en la fisiología de la nutrición y reproducción de peces teleosteos es ampliamente conocido. La mayor parte de las referencias bibliográficas tratan del almacenamiento, movilización y utilización de estas reservas,

a nivel bioquímico (MOURENTE, 1989), pero son muy escasos los trabajos que abordan este aspecto desde el punto de vista de su localización (KHOO, 1979; MAYER *et al.*, 1990).

En este trabajo se estudia la localización de lípidos generales y específicos en órganos relacionados directamente con la reproducción como la gonada y el hígado.

MATERIAL Y METODOS.

El material objeto de estudio ha sido ovario e hígado de ejemplares del pez sapo. *Halobatrachus didactylus*. Porciones de estos órganos fueron fijados en formol tamponado con fosfatos (pH = 7.2), incluidos en parafina y teñidos con Hematoxilina-eosina y Hematoxilina-V.O.F. (GUTIERREZ, 1967) para el estudio histomorfológico. Otras porciones fueron procesadas directamente en el criomicrotomo (sin fijar) para la demostración de los lípidos cuyas técnicas se muestran en la Tabla 1 y son recogidas en las obras de MARTOJA & MARTOJA (1970), CULLING *et al.*, (1985) y PEARSE (1985).

La extracción de los lípidos (Tabla 2) nos permite controlar la especificidad de las técnicas y caracterizar las sustancias lipídicas, basándose en su solubilidad diferencial. Las preparaciones fueron incubadas, antes de la realización de las técnicas histoquímicas, en los disolventes durante 30 y 60 minutos a temperatura ambiente, 4°C y 60°C.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados histológicos e histoquímicos realizados durante la reproducción de *Halobatrachus didactylus* (GONZALEZ DE CANALES *et al.*, 1989) ponen de manifiesto que durante la fase de vitelogénesis se sintetiza el vitelo (endógeno y exógeno) en forma de vesículas, glóbulos (vacuolas) y granos. Estas reservas serán utilizadas por las larvas durante los primeros estadios de su desarrollo (fase lecitotrofa) durante los cuales no reciben alimento externo.

Durante la ovogénesis de peces teleósteos, la vitelogénesis se inicia con la aparición de las vesículas o alveolos corticales en la periferia del citoplasma de los ovocitos. Las vesículas están compuestas, fundamentalmente, por carbohidratos y como señalaron MAYER *et al.*, (1988) en el robalo *Dicentrarchus labrax* no debe considerarse como vitelo, en el sentido estricto, ya que su contenido es liberado en el espacio perivitelino durante la maduración. De hecho las vesículas que en el pez sapo contienen carbohidratos y proteínas (GONZALEZ DE CANALES *et al.*, 1989) no se observan en los ovocitos maduros de ésta y de otras especies de teleósteos (MAYER *et al.*, 1988; SARASQUETE *et al.*, 1990). Seguidamente y alrededor del núcleo aparecen los glóbulos lipídicos (vacuolas), cuyo contenido es disuelto durante el proceso de inclusión en parafina y al final de la vitelogénesis aparecen, en la periferia del citoplasma, los granos de vitelo. La composición química del vitelo (vesículos, glóbulos y granos) de peces teleósteos presenta diferencias inter e intraespecíficas (ZANUY & CARRILLO, 1973; LOPES *et al.*, 1984; GUTIERREZ *et al.*, 1985 entre otros).

En el pez sapo el vitelo lipídico se acumula en los granos (vitelo exógeno) y especialmente en los glóbulos o vacuolas (endógeno). Destaca la positividad de los glóbulos a las reacciones que evidencia lípidos en general, así como a las reacciones que evidencian lípidos neutros (posiblemente triglicéridos) y ácidos (ácidos grasos) y en menor proporción fosfolípidos que son el componente lipídico mayoritario de los granos de vitelo (Tabla 3) e incluso aparecen positivos en las muestras procedentes de material incluido en parafina. Resultados similares, en general, a los observados durante la vitelogénesis de la dorada (SARASQUETE *et al.*, 1990). La composición lipídica de los glóbulos de vitelo y el contenido lipoproteico de los granos (fosfolípidos) ha sido descrito en otros teleósteos (SHACKLEY & KING, 1977; KHOO 1979; SRIVASTAVA & SWARUP, 1979; MAYER *et al.*, 1988). GUTIERREZ *et al.*, (1985) y SARASQUETE *et al.*, (1990) señalaron que la incorporación exógena de lípidos en los granos de vitelo podría estar relacionado con la lipovitelina, procedente de la vitelogenina que se sintetiza en el hígado de las hembras durante la vitelogénesis, es transportada a través de la sangre hasta el ovario y escindida proteolíticamente en dos proteínas de menor tamaño (fosvitina y lipovitelina) (SELMAN & WALLACE, 1982; WIEGAND, 1982).

En la Tabla 2 se muestran los disolventes utilizados y los compuestos lipídicos que extraen. Destaca la reacción muy débil y/o negativa de los granos, en preparaciones incubadas con eter; lo que sugiere su contenido fosfolipídico y la disminución de las reacciones de lípidos en los glóbulos que contienen otras sustancias lipídicas, no extraíbles con eter. La disolución total de los lípidos (glóbulos y granos) fue posible con cloroformo/metanol (1:1).

Una de las principales funciones de hígado de peces teleósteos es la síntesis y depósito de reservas (proteínas, carbohidratos, lípidos, etc.) que son utilizadas por el mismo o transportadas a otros órganos y tejidos durante la reproducción (LAHAYE, 1981). En el pez sapo el hígado presenta, en muestras procedentes de la inclusión en parafina, y dependiendo de la época del año, un aspecto muy vacuolizado; correspondiente a los lípidos. Van BOHEMEN *et al.*, (1981) en otras especies observaron variaciones estacionales en el contenido lipídico del hígado que relacionaron con la maduración del ovario. Los resultados en el sapo, ponen de manifiesto que en los hepatocitos se acumulan gran cantidad de lípidos ácidos (fundamentalmente fosfolípidos) y neutros.

BIBLIOGRAFIA.

- VAN BOHEMEN, CH. G., LAMBERT, J.G.D. and PEUTE, J. 1981. Annual changes in plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female rainbow trout. *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 44: 94-107.
- CULLING, C.F.A., ALLISON, R.T. and BARR, W.T. 1985. *Cellular pathology technique* 4ª Butterworth & Co. (Publishers) Ltd., 642 pp.
- GONZALEZ DE CANALES, M^a L., SARASQUETE, M^aC and BLANCO, M.A. 1989. Caracteres morfológicos y citoquímicos de carbohidratos y proteínas durante la ovogénesis del pez sapo marino, *Halobatrachus didactylus* S. *Actas del VI Congreso Nacional de Histología*. Cádiz. Junio. 1989.

- GUTIERREZ, M., 1967. Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pesq.* 31(2): 265-271.
- GUTIERREZ, M., SARASQUETE, M.C. and RODRIGUEZ, M.B. 1985. Caracteres citohistoquímicos de carbohidratos y proteínas durante la ovogénesis del lenguado, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). *Inv. Pes.* 49(3): 353-363.
- KHOO, K.H. 1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Can. J. Zool.*, 57: 617-626.
- LAHAYE, J., 1981. Les cycles sexuels chez les poissons marins. *Oceanis*, 6(7): 637-654.
- LOPES, R.A., LEME DOS SANTOS, H.S. CAMPOS, G., 1984. Ritmo de desenvolvimento dos ovocitos da manjuba *Anchoviella lepidontostole* (Fowler, 1911) (Pisces: Engraulida), do litoral sul do estado de Sao Paulo, Brasil. *Mems. Mus. Mar.*, 3(28): 1-36.
- MARTOJA, R. and MARTOJA-PIERSON, M. 1970. *Técnicas de histología animal*. Toray Masson S.A. Barcelona, 350 pp.
- MAYER, I., SHACKLEY, S. E. and RYLAND, J. S. 1988. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. An histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.*, 33: 609-622.
- MOURENTE, G. 1989. *Estudio sobre la nutrición larvaria del pez teleosteo marino, Sparus aurata* L. en cultivo. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, 125 pp.
- PEARSE, A.G.E. 1985. *Histochemistry. Theoretical and Applied*. 4ª Ed. Churchill Livingstone, 1055 pp.
- SARASQUETE, M.C., PASCUAL, E., POLO, A. and YUFERA, M. 1990. Histochemistry of proteins, lipids and carbohydrates in the yolk constituent of oocytes, eggs and larvae of *Sparus aurata*. *Development and Aquaculture*. Program & Abstracts. Bergen (Noruega). Agosto. 1990.
- SELMAN, K. and WALLACE, R.A. 1982. *The inter- and intracellular passage of proteins through the ovarian follicle in teleosts*. In: C.J.J. Richter and H.J.Th. Goos (Editors). *Proceedings of International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, Pudoc, Wageningen, pp: 151-154.
- SHACKLEY, S.E. and KING, P.E. 1977. Oogenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. *Cell. Tissue Res.*, 181: 105-128.
- SRIVASTAVA, S. and SWARUP, K. 1979. Cyclic changes in the ovary of a freshwater large murre, *Channa striatus* (Bloch). *Arch. de Biol.* (Bruxelles), 90(3): 245-260.
- WIEGAND, M.D. 1982. Vitellogenesis in fishes. (C.J.J. Richter and H.J.Th. Goos Editors). In *Reproductive Physiology of Fish*. Pudoc, Wageningen, pp. 136-146.

TABLA I

Reacciones histoquímicas de Lípidos.

REACCIONES (Autor/es)	COMPUESTOS DEMOSTRADOS
1.- ACEITE ROJO O (LILLIE & ASHBURH, 1943)	Lípidos en general Triglicéridos. ácidos grasos y colesterol).
2.- NEGRO SUDAN B (Mc MANUS, 1945)	Lípidos en general (Triglicéridos, ácidos grasos, colesterol y fosfolípidos).
3.- AZUL NILO ACUOSO (CAIN, 1947)	Lípidos ácidos (azul) Lípidos neutros (rosa).
4.- AZUL NILO SULFURICO (MENSCHIK, 1953)	Fosfolípidos ligeramente ácidos.
5.- HEMATEINA ACIDA (BAKER, 1946)	Fosfolípidos.
6.- AZUL LUXOL (KLUVER & BARRERA, 1963)	Fosfolípidos excepto esfingomielinas y glicolípidos

TABLA II

Disolventes	Extracciones
Cloroformo / Metanol 1:1	Todos los lípidos
Actetona Absoluta	Glicéridos / Colesterol Esteres del colesterol Esteroides
Eter	Fosfolípidos excepto esfingomielinas
Piridina	Cerebróxidos y Gangliosidos

TABLA III

Resultados de las reacciones histoquímicas de lípidos.

Reacciones	Granos	Glóbulos (Vacuolas)
1.-	3	3
2.-	2	3
3.-	2 (Azul)	3 (Rosa) 1 (Azul)
4.-	2	1
5.-	2	1
6.-	2	1

LOCALIZACION DEL GLUCOGENO EN EL MANTO DEL MEJILLON. *Mytilus galloprovincialis*

Sarasquete, MaC., S. Gimeno* y MaL. González de Canales**.

* Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía.

Polígono de Río San Pedro. Apdo. Oficial. PUERTO REAL (Cádiz).

** Laboratorio de Biología. Facultad de Ciencias del Mar. UCA.

RESUMEN.

En este trabajo se describe un método histoquímico rápido para conservar y demostrar el glucógeno de las células de reserva del manto del mejillón, *Mytilus galloprovincialis*. El glucógeno labil (hidrosoluble) se ha puesto de manifiesto en muestras, sin fijar, procesadas en el criomicrotomo y disminuyendo la oxidación con ácido peryódico y el tratamiento con el reactivo de Schiff en la reacción del PAS.

SUMMARY.

LOCALIZATION OF GLYCOGEN IN THE MANTLE OF MUSSEL. *Mytilus galloprovincialis*. In this paper we have studied a simple histochemistry method for the conservation and localization of the glycogen in the storage tissue of mantle in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*. Labile glycogen is preserved in unfixed samples which are processed in cryostat. PAS reaction is modified in this case.

INTRODUCCION.

La importancia del glucógeno en la fisiología de la reproducción y nutrición de moluscos se refleja en los numerosos trabajos realizados (BARGENTON, 1942; GALTSOFF, 1964; EBLE, 1969; LUBET *et al.*, 1976; GARBOTT *et al.*, 1981; BAYNE *et al.*, 1982; LOWE *et al.*, 1982; GIMENO *et al.*, 1989 a entre nosotros), en los que se estudian los tipos de células que lo almacenan; las variaciones estacionales de las células vesiculares (CV) y adipogranulares (ADG) y su papel decisivo en la gametogénesis de bivalvos.

La conservación y localización celular del glucógeno depende de la metodología utilizada, ya que en las células de reserva de los moluscos bivalvos (PIPE, 1987) como en el hígado de vertebrados (DROCHMANS, 1962) existen dos tipos de glucógeno con características morfológicas y físico-químicas diferentes; uno en forma granular e hidrosoluble y otro en forma de rosetas y soluble en ácidos. La utilización de un tipo u otro de glucógeno y por tanto su abundancia de las células que lo almacenan depende de las características fisiológicas de los organismos y presentan como señalan FERRAN *et al.*, (1990) variaciones estacionales.

Dado que los métodos y técnicas señaladas por la bibliografía para la conservación y localización del glucógeno hidrosoluble resultan muy laboriosas y costosas, proponemos un método alternativo y rápido que ofrece resultados satisfactorios, teniendo en cuenta las características físico-químicas de uno de los tipos de glucógeno que almacenan las células de reserva de los moluscos bivalvos.

MATERIAL Y METODOS.

Porciones de manto del mejillón se procesaron con distintos fijadores (formol tamponado, vapores neutros de formol, glutaraldehído, Bouin, Gendre, Rossman y Carnoy) durante 24 horas a 4°C, para su inclusión en parafina. Otras porciones se procesaron directamente en el criomicrotomo. Algunas de estas secciones se postfijaron con los fijadores señalados. Las secciones obtenidas se tiñeron con Hematoxilina. V.O.F. (GUTIERREZ, 1967) para el estudio histomorfológico y se realizaron las reacciones del PAS y PAS alcohólico (Mc MANUS y HOTCHKISS, 1948) para la detección, entre otros compuestos, del glucógeno.

La reacción del PAS está basada en la acción oxidativa del ácido peryódico sobre los grupos 1,2 glicol o amino-ol contiguos que produce grupos aldehídos, que a su vez reaccionan con fucsina básica decolorada (reactivo de Schiff) dando un compuesto de adición rosa oscuro e insoluble (base coloreada de Schiff). Los compuestos que reaccionan positivamente al PAS comprenden glucógeno, mucopolisacáridos neutros, glucoproteínas y/o glucolípidos. Resultados negativos al reactivo de Schiff sin previa oxidación verifican la ausencia de grupos aldehído libres que pueden interferir, dando resultados falsos. Para diferenciar el glucógeno de las otras macromoléculas positivas al PAS, se someten los cortes a una digestión enzimática con amilasa o diastasa (1-4 horas a 37°C) (LISON, 1960). Los compuestos positivos al PAS que dejan de serlo después del tratamiento enzimático son de naturaleza glucogénica. Todas las técnicas y fijadores utilizados están descritos en las obras generales de BARKA & ANDERSON (1967), MARTOJA & MARTOJA-PIERSON (1970), CULLING *et al.*, (1985), PEARSE (1985) y VACA (1985).

RESULTADOS Y DISCUSION.

En el manto de *Mytilus galloprovincialis* y de otros bivalvos (LOWE *et al.*, 1982, GONZALEZ DE CANALES *et al.*, 1989) procesados de la forma habitual (fijación en

formol e inclusión en parafina), las células de Leydig, vesiculares (LUBET, 1959) o glucogénicas (GIMENO *et al.*, 1989 a) son negativas a la reacción del PAS (Fig. 1), debido como señala PIPE (1987) a sus características hidrosolubles, para las que este autor recomienda una técnica de congelación-deshidratación y posterior fijación de la muestra con vapores a 50°C.

El contenido en glucógeno de estas células (CV) y de las Adipogranulares (ADG) que además de proteínas y lípidos también almacenan glucógeno, presenta variaciones estacionales, íntimamente relacionadas con el ciclo reproductor (MED-HIOUB & LUBET, 1987; PIPE, 1987; GIMENO *et al.*, 1989 a y b y FERRAN *et al.*, 1990).

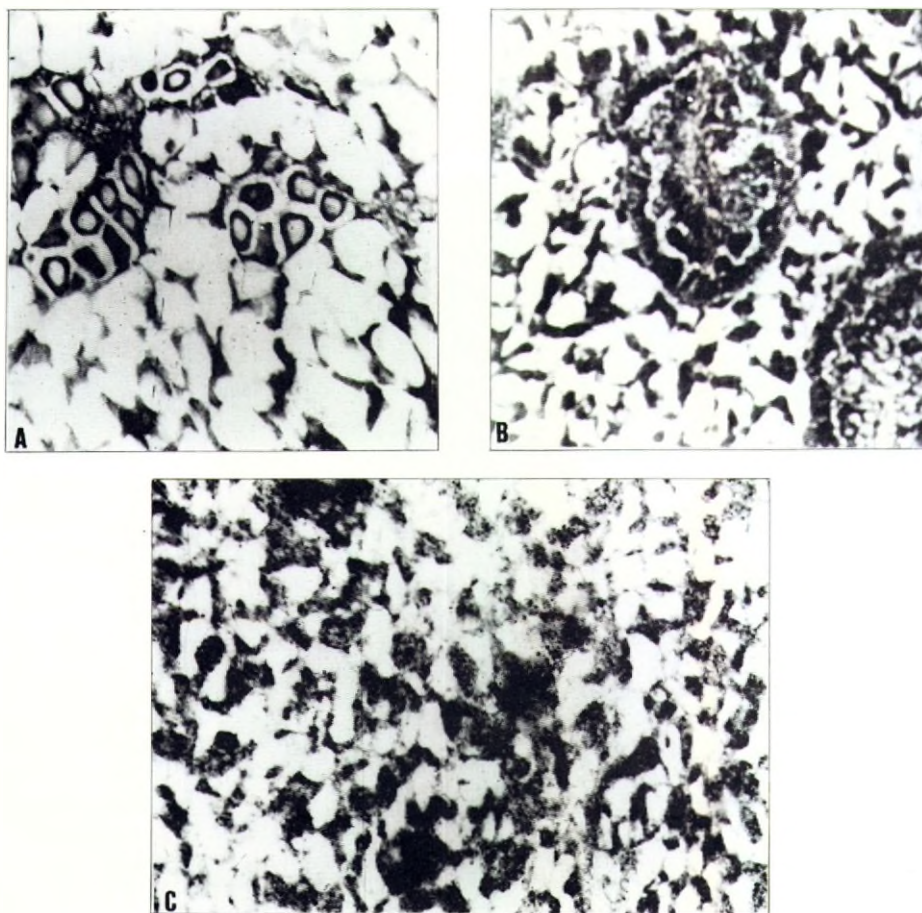


Figura 1.- A y B. Porciones del manto de mejillón. *Mytilus galloprovincialis* hembra y macho, respectivamente. Obsérvese el tejido conectivo rodeando a la gonada madura, donde se observa la positividad del hialoplasma de las células adipogranulares (ADG) y la negatividad de las células vesiculares (CV) a la reacción del PAS en muestras incluidas en parafina. En C se observa la granulación de las células adipogranulares. Además de lípidos y proteínas, algunos granos y el hialoplasma de las ADG contienen glucógeno.

En este trabajo hemos obtenido resultados comparables a los de PIPE (1987) en relación a la conservación y demostración del glucógeno labil, procesando las muestras en el criostato sin fijar y reduciendo los tiempos de oxidación con ácido periódico (5 minutos) y reactivo de Schiff (10 minutos).

La utilización de fijadores alcohólicos, y reaccionan del PAS alcohólico (HOTCHKISS, 1948) a baja temperatura, provoca la formación de artefactos de huida o de polarización, disminuyendo este efecto al añadir ácido pícrico (BARKA & ANDERSON, 1967); de ahí los mejores resultados obtenidos con los fijadores de Gendre y Rossman que contienen pícrico. Realizando las fijaciones con Bouin y glutaraldehído, aunque se mejoran los resultados, en relación al formol, éstos no son del todo satisfactorios.

En las células adipogranulares (ADG) de *Mytilus galloprovincialis* el glucógeno se almacena en su hialoplasma, puesto en evidencia en muestras procesadas de la forma habitual (fijación en formol e inclusión en parafina). Sin embargo el glucógeno de alguno de sus granos (vacuolas) también es labil, ya que sólo se observa en las muestras procesadas según el método recomendado (criostato y disminución de la reacción del PAS).

A la vista de los resultados obtenidos y de la bibliografía consultada podemos concluir que el glucógeno de las células vesiculares del manto de *Mytilus galloprovincialis* es hidrosoluble (labil) y sería comparable al glucógeno granular de tipo β del hígado de mamíferos (GABBOT, 1983); metabólicamente inerte y que suple las necesidades del mejillón a largo plazo, mientras que el glucógeno del hialoplasma de las ADG al no ser hidrosoluble, se podría corresponder con el de tipo α , soluble en ácidos (KLUGER & WILKINSON, 1960), en forma de roseta; siendo utilizado en las necesidades de estos moluscos, a corto plazo: situaciones de stress, metabolismo basal o gametogénesis (BAYNE *et al.*, 1982). En los granos (vacuolas) de las ADG, aparte de otras macromoléculas (GIMENO *et al.*, 1989 b) podrían coexistir los dos tipos de glucógeno labil y no labil.

AGRADECIMIENTOS.

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento al Dr. GUTIERREZ por sus valiosas sugerencias y a Dña. Isabel VIANA por su asistencia técnica.

BIBLIOGRAFIA.

- BARKA, T.M.D. Y ANDERSON, P. J. 1967. *Histoquímica*. (ESCALONA ZAPATA & URIBARRI, Trad.) Ed. Atika. Madrid. 716pp.
- BARGETON, M.-. 1942. Les variations saisonnières du tissu conjonctif vésiculeux de l'Huitre. *Bull. Biol.*, Fr. Belg., 76: 157-191.

- BAYNE, B.L., BUBEL, A., GABBOT, P. A., LIVINGSTONE, D. R. LOWE, D. M. & MOORE, M. N.— 1982. Glycogen utilisation and gametogenesis in *Mytilus edulis* L. *Biol. Lett.*, 3: 89–105.
- CULLINGM, C.F.A.; R.T. ALLISON. 4th Ed. Butterworth & Co. (Publishers) Ltd. 642 pp.
- DROCHMANS, P.— 1962. Morphologie du glycogène. Etude au microscope électronique de colorations négatives du glycogène particulaire. *J. Ultrastutute Research*, 6:141–163.
- EBLE, A.F.— 1969. A histochemical demonstration of glycogen, glycogen phosphorylase and branching enzyme in the american oyster. *Proceed. Nat. Schellf. Assoc.*, 59:27–34.
- FERRAN, E., TREVIÑO, M., MANCEBO, M.J., CRESPO, C. Y ESPINOSA, J.—1990. Estudio del ciclo gonadal anual en *Mytilus galloprovincialis*: cinética de poblaciones celulares en el manto y reservas bioenergéticas. *Actas III Congreso Nac. Acuicult.*, 467–472.
- GABBOTT, P. A.— 1983. Development and seasonal metabolic activities in marine mollusc. In: *The Mollusca*. Vol. 2. Environmental biochemistry and physiology. (Hochanchka, P. W. Ed.). Academic Press. London. 165–217 pp.
- GABBOTT, P.A.— WHITTLE, M. A. HEAD, E.J.H. & RUNHAM, N.M.— 1981. Glycogen storage in the mantle tissue of *Mytilus edulis* Abstract. *Proceedings of the Third European Society Comparative Physiology and Biochemistry Meeting*. Amsterdam. Pergamon. Oxford. 109–110 pp.
- GALSTOFF, P.S.— 1964. The American oyster, *Crassostrea virginica* *Fish. Bull.*, 64:1–480.
- GONZALEZ DE CANALES, M. L., SARASQUETE, M.C. & GUTIERREZ, M.—1989. Histoquímica de carbohidratos y proteínas en la glándula digestiva y tejido conjuntivo de *Ostrea edulis*. *Cuad. Inv. Biol.*, 14:11–22.
- GUTIERREZ, M.— 1967. Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pes.*, 31(2): 265–271.
- GIMENO, S., SARASQUETE, M.C. & GONZALEZ DE CANALES, M.L.— 1989 a. Histochemical data on connective storage and sex cells of two species of mussels, *Mytilus edulis* and *Choromytilus meridionalis*, *Abstracts of International Symposium on mussel*. La Toja (Pontevedra). Spain. pp:33.
- GIMENO, S., SARASQUETE, M.C. & GONZALEZ DE CANALES, M.L. 1989 b. Estudio preliminar de identificación de lípidos por métodos histoquímicos en las células ADG y CV del manto del mejillón. *Mytilus galloprovincialis*. *Abstracts of International Symposium on mussel*. La Toja (Pontevedra). Spain, pp:34.
- HOTCHKISS, R.D.A.— 1948. A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structure in fixed tissues. *Arch. Biochem.*, 16:131–141.
- KLUGER, J.H. & WILKINSON, W.J.C.A.— 1960. Glycogen fractions and their role in the histochemical detection of glycogen. *J. Histochem. Cytochem.*, 7: 195–199.
- LOWE, D.M., MOORE, M.N. & BAYNE, B.L.— 1982. Aspects of gametogenesis in the marine mussel, *Mytilus edulis*, *Mar. Biol.*, 62: 133–145.

- LUBET, P.— 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilides et les Pectinides. *Revue Trav. Inst. Pech. Marit.*, 23: 387–548.
- LUBET, P., HERLIN, P., MATHIEU, M. & COLLIN, F.— 1976. Tissue de réserve et cycle sexuel chez lamellibranches. *Haliotis*: 7:59–62.
- MARTOJA, R. & MARTOJA-PIERSON, M.— 1970. *Técnicas de Histología Animal*. Ed. Toray-Masson, S.A. Barcelona. 350 pp.
- MEDHIOB, N.M. & LUBET, P.E.— 1987. Recherches cytologiques sur l'environnement cellulaire (tissue de réserve) des gonades de la palourde, *Ruditapes philippinarum*. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*. 13(9): 87–102.
- PEARSE, A.G.E.— 1985. *Histochemistry Theoretical and Applied*. Churchill. Livingstone. 4^{ed}. V(2). 1055 pp.
- PIPE, R.K.— 1987. Ultrastructural and cytochemical study on interactions between nutrient storage cells and gametogenesis in the mussel, *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 96: 519–528.
- VACCA, L. L.— 1985. *Laboratory Manual of Histochemistry*. Raven Press. New York. 578 pp.

METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DEL LITORAL DE GUIPUZCOA

M. J. Sola; B. Alonso; A. Ramos; L. Cantón; I. Legórburu.

Lab. Contaminación (Dpto. Química Aplicada). Univ. País Vasco.
Apdo. 1072 20080 – San Sebastián.

RESUMEN.

Se ha determinado la concentración de nueve metales pesados en 136 muestras de sedimentos superficiales del litoral de Guipúzcoa. El análisis se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, tras digestión ácida de la muestra. Los niveles de metal se distribuyen según una función de tipo normal logarítmico. Los valores calculados del «nivel de fondo local» concuerdan con la mineralogía del sedimento.

SUMMARY.

Nine heavy metals were determined in 136 samples of marine surficial sediments in the Guipúzcoa coast. The analysis was done by atomic absorption spectroscopy, after acid digestion. The metal concentration values follow a log-normal distribution. The background values were calculated, and they fitted with the sediment mineralogy.

INTRODUCCION.

La Provincia de Guipúzcoa presenta una alta densidad industrial y de población, cuyos resultados dan origen a una severa contaminación del medio ambiente. Parte de los vertidos, industriales o urbanos, es transportada por los ríos hasta el Golfo de Vizcaya, donde los contaminantes son dispersados por las corrientes. Los compuestos no biodegradables permanecen en el medio marino y, en su mayor parte, terminan acumulándose en el sedimento.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de los niveles de contaminación del sedimento litoral causado por la presencia de metales pesados en los vertidos antropogénicos. Se ha estudiado la concentración de los metales aluminio, cadmio, cromo, cobre, hierro, manganeso, níquel, plomo y zinc, tanto en el total del sedimento como en la fracción de diámetro inferior a $63 \mu\text{m}$.

PARTE EXPERIMENTAL.

Se seleccionaron seis zonas de muestreo correspondientes a cada una de las desembocaduras de los ríos: Deba, Urola, Urumea, Oyarzun y Bidasoa (Figura 1). En cada una de las zonas de estudio se tomaron muestras en tres localizaciones, aproximadamente, a 10, 20 y 50 metros de profundidad. En algunos casos como en la desembocadura del río Urola, la existencia de un extenso fondo rocoso (relacionado con la rasa mareal de Zumaya) obligó a tomar las muestras en lugares cercanos a la costa. La periodicidad de toma de muestras fue de 4 campañas anuales, con un total de 8 en el período desde julio de 1986 hasta julio de 1988.

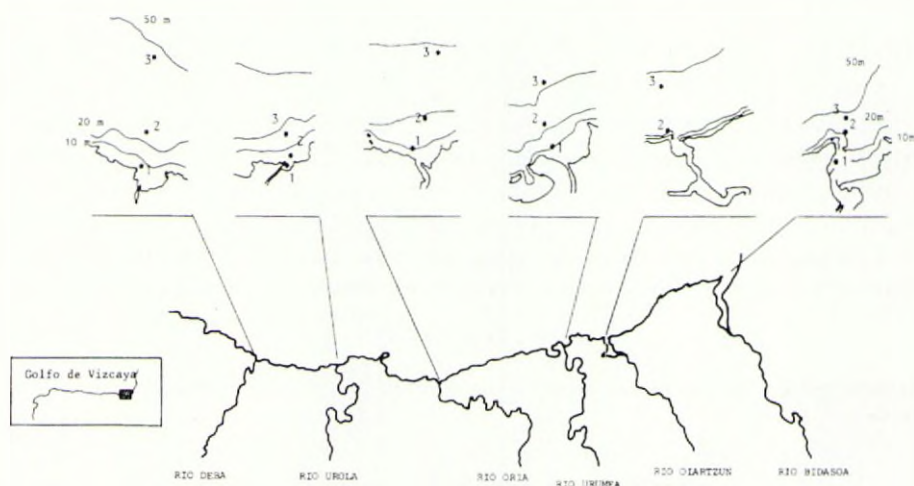


Figura 1.- Localización de los puntos de muestreo.

La recogida de muestras se realizó a bordo del barco «Elorrio», perteneciente al Servicio de Investigaciones Oceanográficas, dependiente del Gobierno Vasco, y con sede en San Sebastián. Se utilizó una draga Van Veen con capacidad suficiente para obtener 200–250 gramos de muestra. El sedimento se conservó en botes de polietileno y se trasladó al laboratorio para su preservación por congelación a menos veinte grados centígrados hasta su posterior análisis.

Tras la descongelación del sedimento en frigorífico (6 horas) y, posteriormente, a temperatura ambiente durante 3 horas se realizó la separación de la fracción $< 63\mu\text{m}$ en húmedo y por tamizado. El secado de ambas fracciones se realizó en estufa a 105°C durante 24 horas. La digestión de la muestra de sedimento se llevó a cabo en un reactor a presión, con camisa interior de Teflon, a 130°C durante tres horas y media con mezcla de ácidos: $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}$ (5:3:1). El análisis resultante se realizó por Espectrofotometría de Absorción Atómica en un equipo Perkin – Elmer 2380 con mechero de aire – acetileno y cámara de grafito HGA – 500. La determinación de níquel y zinc se realizó por el método de adición de patrón debido a la presencia de interferencias de la matriz.

RESULTADOS.

La dispersión de los datos obtenidos es muy alta, y algunas muestras puntuales presentan un elevado grado de contaminación. Un estudio de la función de distribución de los datos (Tabla 1) indica que éstos siguen una pauta de tipo normal logarítmico y, en consecuencia, se ha tomado la media geométrica y el rango como parámetros para caracterizar la distribución (Tabla 2).

A partir de los datos obtenidos se ha podido calcular el valor del «fondo local de metales», es decir, la concentración de metales correspondiente a un sedimento superficial limpio procedente de la zona estudiada.

Para ello se ha recurrido a una técnica estadística, de aplicación en el campo de la geoquímica, y que permite la determinación de los rangos extremos de la concentración de metales (1). Esta técnica consiste en representar, en escala logarítmica, la frecuencia de distribución de las concentraciones de todas las muestras analizadas (Fig. 2): La presencia de cambios bruscos en la pendiente de la gráfica permiten separar los rangos bajo, medio y alto de concentración de metal en las muestras analizadas.

TABLA I

Sesgo de las funciones de distribución de la concentración de metales en los sedimentos del litoral de Guipúzcoa.

	TOTAL		< 63	
	Normal	Normal-log.	Normal	Normal-log.
Al	2.22	-0.09	1.44	-0.17
Cd	6.12	1.27	3.72	0.81
Cr	2.32	-0.01	7.11	1.15
Cu	9.44	1.01	3.84	0.46
Fe	10.29	-0.01	2.17	-0.75
Mn	2.94	0.15	2.34	-0.47
Ni	3.58	0.71	4.58	0.93
Pb	4.26	0.27	5.83	-0.13
Zn	3.18	0.48	2.59	-0.17

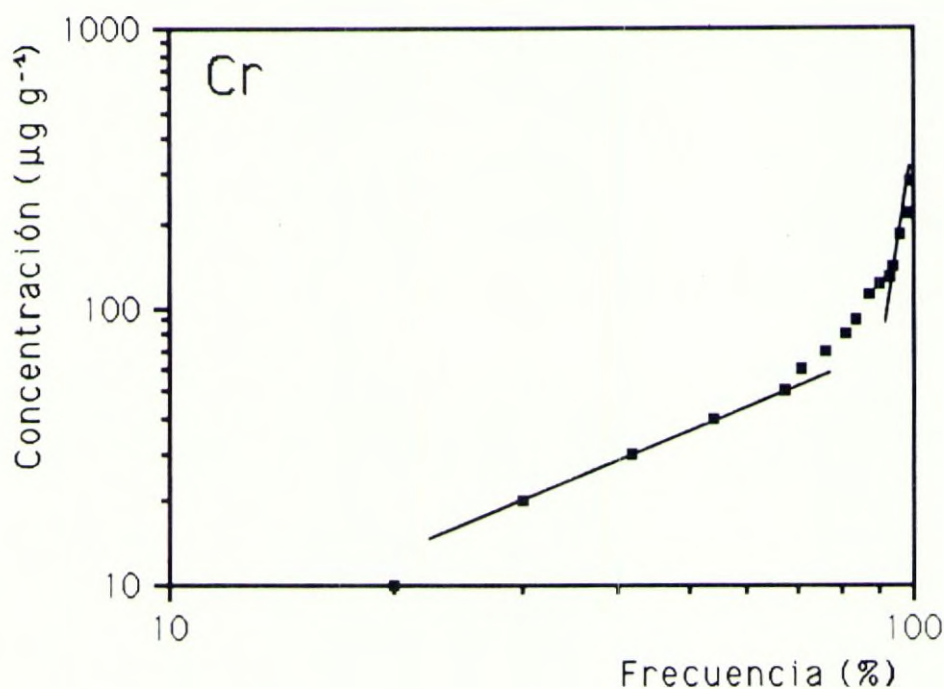


Figura 2.- Representación logarítmica de la función de distribución de las concentraciones de cromo en sedimentos litorales de Guipúzcoa.

La hipótesis de partida es que la presencia de metal en el sedimento es debida a la superposición de material de origen litogénico (material detrítico), con bajos contenidos en metal, y de material antropogénico, con fuertes aportes metálicos. La parte baja de la distribución se puede asimilar a los sedimentos limpios en los que predomina el material detrítico, mientras que los rangos medio y alto corresponde a sedimentos contaminados por la presencia de contribuciones de metal de origen antropogénico. Así, la media de las muestras que forman el rango bajo de la distribución sería equivalente al «valor de fondo» de la zona. Los valores obtenidos por esta técnica (Tabla 3) son relativamente bajos, y se encuentran en el rango de concentración correspondiente a rocas areniscas y calizas (2), lo que concuerda con la mineralogía de los sedimentos del litoral de Guipúzcoa, compuestos por una mezcla de cuarzo y calcita (3).

Tabla II.-Concentración media de metales (media geométrica) y rango, expresados como $\mu\text{g g}^{-1}$, en sedimentos litorales de Guipúzcoa.

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
SEDIMENTO TOTAL									
Río Bidasoa									
Punto 1	18,000 8,900-54,000	0.37 0.17-1.86	54 30-100	31 10-170	30,600 14,900-53,500	450 280-670	55 20-560	26 10-170	83 50-120
Punto 2	9,700 4,200-22,400	0.32 0.10-1.90	20 10-50	24 4-150	6,600 3,300-14,00	240 120-370	99 20-610	18 10-30	61 30-140
Punto 3	7,500 2,200-21,600	0.21 0.10-0.36	11 5-70	18 10-74	5,400 3,200-12,100	260 170-400	33 10-91	23 10-50	49 20-95
Río Oiartzun									
Punto 2	19,900 4,900-51,600	0.55 0.10-7.11	21 6-59	60 20-530	20,900 7,000-56,800	380 120-890	24 5-91	41 10-280	240 80-790
Punto 3	24,800 9,600-63,500	0.44 0.20-0.68	38 28-71	33 14-140	21,300 9,800-29,000	311 240-490	121 12-1,400	60 30-110	200 150-360
Río Urumea									
Punto 1	10,500 1,700-16,800	0.20 0.10-0.50	21 10-340	18 7-90	11,100 6,900-63,000	270 180-470	40 32-121	15 9-50	64 40-92
Punto 2	11,600 4,100-25,000	0.34 0.10-1.70	16 8-34	30 12-92	11,200 7,000-16,000	290 180-440	53 20-1,100	18 5-42	69 46-100
Punto 3	10,200 2,200-21,600	0.18 0.10-0.33	20 10-87	18 5-140	9,200 8,600-36,800	370 110-1,830	38 12-660	21 13-41	64 27-12

Tabla II.-(Continuación).

SEDIMENTO TOTAL										
	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn	
Río Oria										
Punto 1	16,200 3,100-23,800	0.52 0.25-6.10	67 28-220	62 13-240	42,600 3,100-95,000	380 240-740	54 7-190	43 10-60	160 71-400	
Punto 2	11,900 3,100-25,600	0.31 0.10-0.51	58 30-130	38 21-400	35,600 1,300-52,000	320 90-480	68 19-1,300	24 20-34	180 60-350	
Punto 3	20,600 7,500-33,900	0.39 0.21-0.63	74 36-220	30 17-140	35,200 2,900-61,900	300 180-460	72 20-440	36 17-60	140 110-190	
Río Urola										
Punto 1	15,000 6,000-62,500	0.22 0.10-0.40	56 20-240	26 10-77	34,200 28,000-46,800	350 210-490	30 15-70	17 5-35	91 70-110	
Punto 2	15,100 6,100-58,200	0.26 0.10-0.40	64 49-220	25 9-28	37,800 31,000-53,000	360 230-490	58 20-380	23 18-40	110 95-150	
Punto 3	22,900 7,500-56,000	0.27 0.17-0.50	51 10-110	23 17-40	47,100 30,000-70,000	440 410-490	57 20-320	26 10-45	130 90-210	
Río Deba										
Punto 1	21,600 7,500-86,000	0.41 0.10-3.48	130 100-280	77 25-293	68,200 15,400-185,000	570 420-900	110 40-550	54 20-230	200 150-270	
Punto 2	17,700 7,800-72,000	0.45 0.20-1.53	44 29-120	27 10-142	30,600 19,800-52,000	270 200-340	42 10-210	27 21-39	100 60-160	
Punto 3	14,600 6,300-50,000	0.27 0.20-0.42	12 9-32	77 11-390	12,700 1,200-23,000	640 450-1,100	110 24-1,500	27 10-48	74 51-120	

Tabla II.- (continuación):

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
FRACCION < 63 μM									
Río Bidasoa									
Punto 1	19,900 11,000-34,000	0.37 0.27-1.50	140 30-1,400	30 24-26	72,00 2,200-15,500	890 410-1,800	140 40-1,000	32 21-40	140 100-190
Punto 2	21,600 6,500-46,300	0.72 0.40-2.00	84 20-180	72 28-340	12,200 2,700-50,000	330 160-430	67 10-210	63 40-170	150 30-260
Punto 3	13,800 7,000-49,500	0.41 0.27-0.83	74 20-1,800	77 31-24	10,200 1,600-30,800	290 190-530	230 40-1200	57 20-210	120 60-310
Río Oiartzun									
Punto 2	40,100 3,600-85,400	0.64 0.30-2.03	100 20-740	49 20-94	15,500 6,800-31,000	250 120-450	110 20-11,000	37 10-110	160 40-810
Punto 3	43,400 10000-92600	1.18 0.90-1.70	100 40-140	86 50-180	36,700 27000-50,000	410 310-570	76 37-220	54 10-180	480 280-980
Río Urumea									
Punto 1	13,600 6,300-26,000	1.08 0.50-4.20	120 50-700	39 30-50	14900 9,000-21,000	300 150-470	69 20-550	37 20-500	120 60-320
Punto 2	26,900 12,800-45,000	0.70 0.40-4.00	45 6-320	82 20-360	14400 5,800-36,000	270 90-450	120 10-560	100 60-140	240 100-350
Punto 3	22,200 8,000-52,000	0.52 0.30-1.00	53 20-120	48 19-200	17,300 9,100-41,400	370 120-1,400	77 20-810	87 20-730	160 100-980

Tabla II-(Continuación).

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
FRACCION < 63 μ M									
Río Oria									
Punto 1	17,200 8,100-35,200	0.77 0.60-1.40	90 30-170	65 46-80	44,800 30,200-83,000	390 150-490	100 79-170	63 10-90	210 150-290
Punto 2	18,900 9,800-47,600	0.60 0.40-1.10	98 40-200	75 50-220	43,000 27,200-70,000	370 220-670	150 62-590	50 30-70	50 230-290
Punto 3	34,900 15,600-63,000	0.57 0.30-1.60	150 40-960	62 45-170	40,600 21,900-82,000	390 200-830	132 40-6,100	80 50-91	240 200-310
Río Urola									
Punto 1	34,500 12,000-84,500	0.44 0.39-0.60	110 68-760	34 9-140	16,600 3,800-49,000	210 37-740	180 30-4,000	18 8-30	57 27-190
Punto 2	22,700 9,800-77,200	0.51 0.30-0.58	180 66-13,000	31 8-160	32,800 15,000-64,000	290 140-1,100	150 20-7,300	49 10-210	86 42-260
Punto 3	23,400 9,600-70,100	0.35 0.26-0.53	95 44-280	38 21-350	33,200 12,000-16,600	220 36-400	93 46-1,100	30 10-80	130 40-210
Río Deba									
Punto 1	27,200 1,200-112,700	0.45 0.30-0.58	260 50-9,000	100 57-580	43,900 29,900-71,000	410 240-970	280 47-2,200	37 5-140	120 50-180
Punto 2	29,700 10,000-108,000	0.53 0.20-2.40	130 21-1,700	69 23-670	32,800 10,000-59,000	300 100-1,200	220 32-5,300	42 20-140	120 36-220
Punto 3	22,000 11,000-97,300	0.48 0.30-0.77	77 28-1,600	40 20-90	17,200 9,500-36,000	290 20-530	99 33-240	38 10-140	78 20-110

TABLA III

Valor del «fondo local de metales» en sedimentos del litoral de Guipúzcoa, expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$

Metal	Conc.
Al	8,460
Cd	0,24
Cr	23,2
Cu	15,0
Fe	9,100
Mn	232
Ni	12,3
Pb	22,9

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado por el Servicio de Medio Ambiente de la Excm. Diputación Foral de Guipúzcoa. Agradecemos al Servicio de Investigaciones Oceanográficas la colaboración prestada en las tareas de muestreo.

REFERENCIAS.

- 1.- SIEGEL, F.R. (1974): Applied geochemistry. Wiley-Interscience, New York.
- 2.- SALOMONS, W; FÖRSTNER, U (1984): Metals in the hydrocycle. Springer-Verlag, Berlín.
- 3.- DORRONSORO, C.; ALONSO, B.; RAMOS, A.; GARCIA, R.; CANTON, L.; LEGORBURU, I. (1988): Análisis geoquímico y mineralógico de los estuarios exteriores de los ríos Deba y Bidasoa. Geociencias, (Aveiro), **3**, 153-163.

DETERMINACION DE HIERRO Y VANADIO EN AGUA DE MAR

J. A. Pérez-Bustamante, R. Rodríguez y M. García-Vargas.

Departamento de Química Analítica. Universidad de Cádiz (Puerto Real).

RESUMEN.

En este trabajo se ha realizado la puesta a punto de métodos extractivo-fotométricos de análisis de hierro y vanadio en agua de mar, así como su determinación simultánea. Los reactivos elegidos son saliciloidhidrazonas, que forman complejos coloreados con dichos metales.

Los métodos puestos a punto han sido aplicados a muestras sintéticas, así como a muestras tomadas de la Bahía de Cádiz. La comparación de los resultados obtenidos con otras técnicas ha sido satisfactorio.

SUMMARY.

In this paper are reported extractive-photometric determinations of iron and vanadium in sea water, as well as their simultaneous analysis. The chosen reagents are salicyloyhidrazones, wich form coloured metallic complexes.

The proposed methods have been applied to synthetic sea water and to Cadiz Bay samples. The obtained results have been compared with the obtained using another method showing a good coincidence.

INTRODUCCION.

El análisis de trazas metálicas en agua de mar es de gran importancia, sobre todo para el control de la contaminación en zonas de gran actividad antropogénica, como es el caso de la Bahía de Cádiz.

En este trabajo se recoge la puesta a punto de métodos espectrofotométricos de análisis de hierro y vanadio en agua de mar.

El hierro es un metal de gran importancia geoquímica y biológica en el medio marino. Es esencial para los organismos marinos al estar implicado en sus procesos metabólicos; así, la disponibilidad de hierro puede limitar el desarrollo del fitoplancton marino (1).

La concentración de hierro en agua de mar es del orden de las ppb, encontrándose en forma disuelta y particulada. Su estado de oxidación más frecuente es +3, pero en condiciones reductoras está principalmente como hierro (II) (2,3).

La concentración de vanadio disuelto en agua de mar se encuentra en el rango $(2-3) \cdot 10^{-8}$ M (4,5); siendo su estado de oxidación más importante V(V) (6), que a pH neutro se encuentra como ión $\text{VO}_2(\text{OH})_2$ que es un producto de hidrólisis del VO_2^+ (7).

El interés por la química marina del vanadio ha aumentado en los últimos años, desde el descubrimiento de que ciertos tunicados tienen un complejo organovanadio como pigmento respiratorio (8).

Los reactivos elegidos para las determinaciones son la saliciloilhidrazona del picolinaldehído (SHPA) y la saliciloilhidrazona de la 2-acetilpiridina (SHAP). Estos compuestos forman complejos coloreados con hierro y vanadio, que han sido utilizados en las determinaciones extractivo-fotométricas de dichos metales en medios no salinos (9-12).

METODOS DE TRABAJO.

Determinación espectrofotométrica de hierro en agua de mar: A 250 ó 500 ml de agua de mar, contenidos en un embudo de decantación, se les añade 1 ml de disolución de ácido ascórbico al 5% y 5 ml de tampón acético-acetato de pH 4,5; tras adicionar 10,0 ml de disolución de SHPA ó SHAP al 0,05% en cloroformo, se agita el embudo durante 2 minutos. Cuando las fases se separan, se transfiere la orgánica a un vaso de precipitado con sulfato sódico anhidro hasta su secado y se mide su absorbancia a 640 nm frente a agua.

Determinación espectrofotométrica de vanadio en agua de mar: A 250 ó 500 ml de agua de mar, contenidos en un embudo de decantación, se les añaden 5 ml de tampón acético-acetato de pH 4,0; tras añadir 10,0 ml de disolución de SHPA al 0,05% en clorobenceno o SHAP al 0,05% en cloroformo, se agita durante 2 minutos. Tras secar la fase orgánica se mide su absorbancia a 425 nm frente a un blanco fotométrico, preparado con agua de mar sintética sin vanadio.

Determinación simultánea de hierro y vanadio en agua de mar:

A 250 ó 500 ml de agua de mar sintética, contenidos en un embudo de decantación, se les añade 5 ml de tampón acético-acetato de pH 4,5 y 10,0 ml de SHAP al 0,05% en cloroformo. La mezcla se agita durante 2 minutos, tras separarse las fases se seca la orgánica con sulfato sódico anhidro y se mide su absorbancia a 640 y 430 nm frente al correspondiente blanco fotométrico.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Extracción de los complejos metálicos en agua de mar:

Cuando se agita agua de mar sintética que contenga hierro (II) o vanadio (V) con una disolución orgánica de SHPA ó SHAP, se forma en la fase orgánica un complejo coloreado.

Los espectros de absorción de los complejos de hierro (II) con ambos reactivos presentan máximos a 380 y 640 nm; mientras que los de vanadio (V) -SHPA a 405 y 425 y vanadio (V) -SHAP a 400 y 420 nm (figura 1).

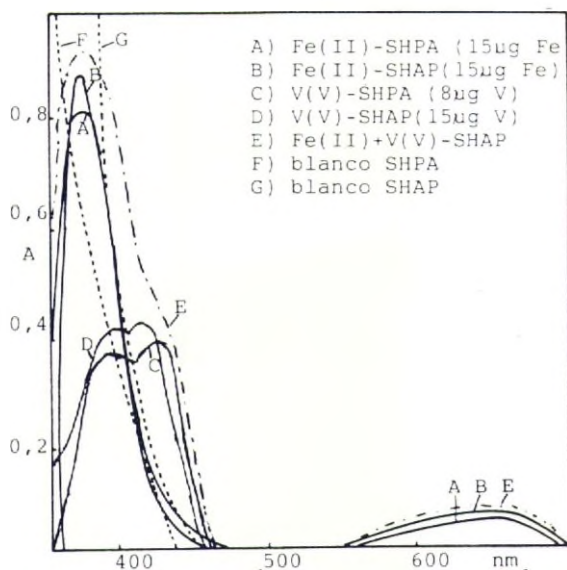


Figura 1.- Espectros de absorción de los complejos de hierro y vanadio con SHPA y SHAP.

Se estudió el pH al cual es máxima la extracción, observándose para los complejos de hierro una máxima constancia de absorbancia en el rango de pH 4,0-7,0. El rango de pH óptimo fue de 3,5-4,5 para el complejo V(V) -SHPA y de 2,0-5,0 para el V(V)-SHAP.

Asimismo, se estudió el tiempo óptimo de agitación para la extracción, obteniéndose un tiempo de 2 minutos para todos los volúmenes de muestra ensayados.

Determinación de hierro y vanadio en agua de mar:

Tras el estudio de las condiciones óptimas de extracción se pusieron a punto métodos de determinación de trazas de hierro y vanadio en agua de mar.

La ley de Beer se cumple para el hierro hasta 20 µg/ml en la fase orgánica a 640 nm; obteniéndose para el complejo Fe(II)-SHPA una absorptividad molar de $3,910^3$ y para Fe(II) -SHAP de $3,7 \cdot 10^3$ a 640 nm.

Para ambos complejos de vanadio la ley de Beer se cumple hasta más de 6 $\mu\text{g/ml}$ en la fase orgánica a 425 nm; siendo la absorptividad molar $8,1 \cdot 10^4$ para el complejo $\text{V(V)}-\text{SHPA}$ y $1,5 \cdot 10^4$ para el complejo $\text{V(V)}-\text{SHAP}$ a 425 nm.

Dadas las bajas concentraciones de hierro y vanadio en el agua de mar, es adecuado utilizar el método de las adiciones patrones. Este método consiste en adicionar cantidades conocidas y crecientes del metal (0,5,10,15 μg) sobre volúmenes semejantes de muestra. Tras extraer y medir su absorbancia se representa el valor obtenido frente a la cantidad de metal añadido; la línea recta resultante se extrapola hasta que corta el eje de abscisas.

Para poder determinar simultáneamente hierro y vanadio en agua de mar, las condiciones de extracción han de ser tales que sea posible la extracción simultánea de ambos cationes.

En la tabla 1 se recogen las condiciones de extracción para cada uno de los complejos. El reactivo elegido es SHAP, ya que tanto el hierro como el vanadio son extraídos con disoluciones clorofórmicas del mismo.

El pH óptimo de extracción es de 4,5. Como se puede observar en la tabla 1, para la determinación de hierro es necesario añadir ácido ascórbico, que no se puede añadir en la determinación simultánea, sin embargo no resultó necesario añadir dicho reductor, ya que en las cantidades que contiene el agua de mar, el propio reactivo es capaz de reducir el hierro.

Tabla 1.— Condiciones óptimas de extracción para la determinación de hierro y vanadio en agua de mar con SHPA y SHAP.

Característica	Fe-SHPA	V-SHPA	FeSHAP	V-SHAP
max (nm)	640	405–425	640	400–420
pH óptimo	4,0–7,0	3,5–4,5	4,0–7,0	2,0–5,0
disolvente	cloroformo	clorobenceno	cloroformo	cloroformo
reductor	ac. ascórbico	—	ac. ascórbico	—

Determinación simultánea de hierro y vanadio en agua de mar:

SHAP permite la determinación simultánea de hierro y vanadio en agua de mar, ya que permite extraer simultáneamente ambos cationes y además, el espectro de absorción de una mezcla de complejos de hierro y vanadio es igual a la suma de los espectros de los complejos individuales (figura 1.E).

Para determinar hierro y vanadio simultáneamente se ha de aplicar el procedimiento anteriormente descrito y los valores de las absorbancias obtenidos se utilizan para resolver un sistema de ecuaciones que nos da las concentraciones de cada ión metálico.

Tras estudios de las relaciones absorbancia-concentración se han obtenido las siguientes ecuaciones:

$$(1) A(640) = 0,064 \cdot \mu\text{gFe}.$$

$$(2) A(430) = 0,0284 \cdot \mu\text{gV} + 0,0044 \cdot \mu\text{Fe}.$$

$$(3) A(425) = 0,0336 \cdot \mu\text{gV} + 0,0049 \cdot \mu\text{gFe}.$$

$$(4) A(415) = 0,0419 \cdot \mu\text{gV} + 0,0053 \cdot \mu\text{gFe}.$$

Para calcular la concentración de hierro y vanadio es suficiente aplicar la ecuación 1 y cualquiera de las otras tres.

APLICACIONES.

Determinación de hierro en agua de mar:

Los métodos descritos han sido aplicados al análisis de hierro en muestras de agua de mar de la Bahía de Cádiz.

Las muestras fueron tomadas en frascos de polietileno y filtradas a través de un filtro de $0,45\mu\text{m}$. Posteriormente fueron acidificadas con HNO_3 hasta pH 3,0.

Los resultados obtenidos con ambos reactivos fueron comparados entre sí y algunas muestras también fueron analizadas por absorción atómica utilizando como reactivo pirrolidindito-carbamato amónico (APDC). Como se puede observar en la tabla 2, hay una buena coincidencia entre los resultados.

TABLA II

Resultados de los análisis de hierro en muestras de la Bahía de Cádiz con SHPA y SHAP.

Muestra	Concentración de Fe (ppb)		
	SHPA	SHAP	APDC
1	1,0	1,0	—
2	2,0	2,0	—
3	11,0	—	11,5
4	5,0	—	4,5
5	4,5	—	5,8

Determinación de vanadio en agua de mar;

Los métodos espectrofotométricos de determinación de vanadio puestos a punto han sido aplicados a muestras de agua de mar sintética con diversas cantidades de este metal.

Algunos de los resultados con la SHPA han sido comparados con los obtenidos utilizando 4-(2-piridilazo) resorcinol (PAR), obteniéndose buenos resultados (tabla 3).

Tabla III

Resultados de análisis de vanadio(V) en muestras de agua de mar sintética con SHPA.

<u>Añadido</u>	<u>Vanadio (ppb)</u>	
	<u>SHPA</u>	<u>Encontrado</u> <u>PAR</u>
2,0	1,5	2,2
10,0	9,8	9,2
20,0	22,2	—

Determinación simultánea de hierro y vanadio en agua de mar:

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de diversas mezclas de hierro y vanadio en agua de mar.

Los valores indican que la mejor longitud de onda para la medida es 430 nm, ya que a dicha longitud de onda es menor la absorbancia del reactivo. Asimismo, se observa que la mayor precisión se obtiene para concentraciones pequeñas de ambos metales.

TABLA IV

Determinación simultánea de hierro y vanadio en agua de mar sintética.

<u>Muestra</u>	<u>Añadidos</u>		<u>Encontrados</u>			
	<u>µg Fe</u>	<u>µg V</u>	<u>µg Fe</u>	<u>µg vanadio</u>		
				<u>430</u>	<u>425</u>	<u>415</u>
1	1,00	1,00	0,94	0,96	0,95	0,86
2	1,00	2,00	1,09	1,90	1,96	1,78
3	5,00	10,00	5,62	9,55	9,96	9,12
4	10,0	20,00	10,47	19,61	20,32	18,50
5	30,0	20,0	28,28	16,20	17,47	16,35

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- J. LEWIN, C. CHEN, LIMNOL. Oceanogra., **16**(4), 670-5 (1971).
- 2.- S. AHRLAND, «The nature of Seawater», E.D. Goldberg Ed.; Dahnlem Konferenz, Berlin, pp 219 (1975).
- 3.- D.R. KESTER, R.H. BYRNE, y. J. LIANG, «Marine Chemistry in the Coastal Environment». T.M. Church Ed.; Am. Chem. Soc.; Washington pp 56 (1975).
- 4.- A.W. MORRIS, Deep-Sea Res., **22**, 49-54 (1975).
- 5.- P.C. COLE, J.M. ECKERT, K.L. WILLIAMS, Anal. Chim. Acta, **153**, 61-67 (1983).
- 6.- D.R. TURNER, M. WHITFIELD, A.G. DICKSON, Geochim. Cosmochim. Acta, **45**, 855-882 (1981).
- 7.- C.F. BAES, R.E. MESMER, «The Hydrolysis of Cations», Wiley: New York, pp 197-210 (1976).
- 8.- R.V. TAIT, R.S. DE SANTO, «Elements of marine ecology», (1972).
- 9.- M. GALLEG0, M. GARCIA-VARGAS, Microchemical Journal, **24**, 143-144 (1979).
- 10.- M. GALLEG0, M. GARCIA-VARGAS, M. VALCARCEL, The Analyst, **104**, 613-619 (1979).
- 11.- M. GARCIA-VARGAS, M. GALLEG0, M. DE LA GUARDIA, The Analyst, **105**, 965-973 (1980).
- 12.- M. GARCIA-VARGAS, J.M. BAUTISTA, S. AVILA, R. COY-YLL, Microchemical Journal, **27**, 519-529 (1982).

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado gracias a la CICYT (PB86/0224).

DEMOSTRACION HISTOQUIMICA DE LISOSOMAS Y LIPOFUCSINAS EN *Mytilus galloprovincialis* y *Ruditapes phillipinarum* EXPUESTOS A METALES PESADOS

Sarasquete, M.C. *, Gimeno, S* y González de Canales, M. L. **

* Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. Polígono del Río San Pedro. Apdo. Oficial. 11510. Puerto Real (Cádiz).

** Laboratorio de Biología. Facultad de Ciencias del MAR. UCA.

RESUMEN.

En los mejillones tratados con metales pesados los lípidos neutros insaturados tienden a acumularse en los grandes lisosomas de tipo homogéneo, mientras en las almejas tratadas con cadmio predominan los lisosomas II heterogéneos. Las lipofucsinas conteniendo gránulos se observan en los mejillones expuestos a cobre y en las almejas tratadas con cadmio. Ningún granulo de lipofucsina se observó en los mejillones contaminados con este metal. La reacción del Negro Sudán B, previa digestión enzimática con pepsina evidencia las lipofucsinas insolubles altamente oxidadas.

SUMMARY.

Unsaturated neutral lipids tend to accumulate in pathologically enlarged lysosomes of the homogeneous-type in metal-exposed mussels, whereas in extremely enlarged heterogenous lysosomes predominating in Cd-clams. Lipofuchsin containing granules were mainly found in Cu-exposed mussels and Cd-exposed clams. No granules were detected in Cd-mussels. The comparison of the methods indicate that paraffin sections in the method of pepsine-digestion followed by Sudan Black B are also a suitable for the localization of highly oxidised insoluble lipofuchsin.

INTRODUCCION.

Los moluscos bivalvos pueden acumular y tolerar altos niveles de metales pesados (Cd, Cu, Zn, etc.) en los tejidos, sin mostrar aparentes signos de toxicidad (ENGEL & FLOWER, 1979; JANSSEN & SCOLTZ, 1979). Disponen de varias estrategias de detoxificación (BRYAN, 1979; COOMBS, 1980) para mantener bajos niveles de metales pesados «cationes libres» en las células como formación de gránulos insolubles de lipofuscinas, metalotioninas, sistemas macrofágicos, etc. (GEORGE, 1982 y 1983 a y b; VIARENGO *et al.*, 1988).

HENRY *et al.*, (1984) en sus investigaciones sobre los procesos de bioacumulación y toxicidad de los metales pesados, señalan que la almeja, *Ruditapes decussatus* es altamente específica al cadmio.

En este trabajo se realiza un estudio comparativo en *Ruditapes philipinarum* y *Mytilus galloprovincialis*, observando los cambios subcelulares en la glándula digestiva: respuestas lisosomales, técnicas histoquímicas alternativas de lipofuscinas en ensayos experimentales con CdCl_2 y Cu_2SO_4 (5ppm durante 5 días).

MATERIAL Y METODOS.

El material objeto de este estudio han sido ejemplares de mejillón, *Mytilus galloprovincialis* y almeja, *Ruditapes philipinarum*, expuestos durante 5 días a 5 ppm de CdCl_2 y Cu_2SO_4 . Porciones de glándula digestiva fueron fijadas en formaldehído al 10% tamponado con fosfatos 0.1M (pH=7.2) e incluidas en parafina de la forma habitual. Cortes histológicos de 5-7 μ fueron teñidos con Hematoxilina-V.O.F. (GUTIERREZ, 1967).

El contenido lipídico de los lisosomas de las células de la glándula digestiva fue determinado en secciones procesadas en el criomicrotomo (Criocut E) teñidas con Aceite Rojo O (ORO) (0.5% de ORO en isopropanol al 60% v/v). Para distinguir los lípidos ácidos de los neutros se utilizó la técnica del Azul Nilo acuoso (Sulfato de azul Nilo al 1% en SO_4H_2 al 5% a pH=2). Las lipofuscinas fueron puestas en evidencia con diferentes técnicas: Tionina (tionina al 0.25% en buffer a pH=3), Azul Nilo modificado (Azul Nilo al 0.05% en SO_4H_2 al 1% a pH=0.9) y reacción de Schmorl en secciones procedentes del criostato. La reacción del Negro Sudán B (SBB) previa digestión enzimática con pepsina fue realizada en secciones de material incluido en parafina. Todas estas técnicas son tomadas de las obras generales de BARKA & ANDERSON (1967); CULLING *et al.*, (1985); PEARSE (1972 & 1985) y VACCA (1985).

RESULTADOS.

Las técnicas aplicadas en este trabajo para la identificación de los lípidos de las lipofuscinas como Aceite Rojo O y Azul Nilo Acuoso ofrecen resultados satisfactorios. Para la identificación de lipofuscinas recomendamos las técnicas de la Tionina a pH=3 y la del Azul Nilo modificado a pH=0.9, así como la reacción del Negro Sudán B, pre-

via digestión enzimática con pepsina, en secciones de parafina, para poner en evidencia las lipofuscinas insolubles altamente oxidadas. La reacción de Schmorl debido a su poca especificidad no es aconsejable, ya que para ello es necesario bloquear las proteínas ricas en cisteína, cistina y otros grupos reductores que son también positivas a esta reacción.

Los lisosomas de las células de la glándula digestiva del, *Mytilus galloprovincialis* y almeja, *Ruditapes phillipinarum* contienen lípidos, cuya presencia se ve incrementada en los mejillones expuestos a cobre, en los que se produce un aumento en los lisosomas homogéneos y localizados en la región basal de las células digestivas. Estas vacuolas se tiñen en rosa con Sulfato de Azul Nilo, sugiriendo que su naturaleza son lípidos neutros insaturados. En las almejas expuestas al cobre, se observan unos cuantos gránulos de pigmento (lipofuscinas basófilas) teñidas con Sulfato de Azul Nilo.

En los mejillones tratados con cadmio se observa un incremento del tamaño de los lisosomas homogéneos, mientras en las almejas se observa un incremento de los lisosomas secundarios heterogéneos. Estos lisosomas exhiben una matriz negativa rodeada por lípidos cuando se tratan con Aceite Rojo O (ORO), y en forma de gránulos basófilos cuando se tiñen con Sulfato de Azul Nilo. Un aumento de estos gránulos basófilos localizados en la porción apical y en el lumen del epitelio digestivo se observa en las almejas tratadas con cadmio.

DISCUSION.

El aumento del acúmulo de lípidos en los lisosomas observados en la glándula digestiva de mejillones y almejas es una respuesta común en los moluscos expuestos a tóxicos químicos (LOVE, 1988 y MOORE, 1988). Los lisosomas de tipo heterogéneo descritos por LOWE (1988) en *Mytilus edulis* han sido observados en almejas, *Ruditapes phillipinarum* tratadas con cadmio, sugiriéndose un mayor efecto (LOWE & CLARKE, 1989) del cadmio en las células del epitelio digestivo de las almejas en relación al cobre.

Las lipofuscinas que son el producto final de la peroxidación de los radicales libres, derivan de la autofagia de las membranas lipoproteicas (PEARSE, 1972). Todas las técnicas realizadas para la evidencia de estos pigmentos han dado resultados consistentes. Las técnicas de la Tionina y el Azul Nilo modificado en secciones de criostato nos permiten distinguir varios estados en la peroxidación lipídica, así como sus lugares de formación y acumulación; los depósitos amarillos se refieren a los primeros estado de los lisosomas II y los marrones a las lipofuscinas altamente oxidadas de los cuerpos residuales. Las secciones de parafina pueden ser usadas, ya que cuando el pigmento envejece se hace más insoluble en los solventes (BARKA & ANDERSON, 1967).

La combinación de métodos histoquímicos ayuda a distinguir los diferentes mecanismos de detoxificación en almejas y mejillones tratados experimentalmente con metales pesados. Así en el mejillón, *Mytilus galloprovincialis* el cadmio no parece ser excretados por medio de la liberación de los cuerpos residuales de la glándula digestiva, mientras este proceso parece realizarse en la almeja, *Ruditapes phillipinarum* cuando los

gránulos de lipofuscinas son sintetizados en las exposiciones experimentales a este material. Por el contrario la eliminación del cobre por liberación de los cuerpos residuales (conteniendo lipofuscinas) no es tan efectiva en la almeja como en el mejillón, como lo sugiere la presencia de gránulos de lipofuscina en la glándula digestiva de almeja expuestas a cobre. GEORGE *et al.*, (1978) y MARTOJA *et al.*, (1988) afirman que es el sistema macrófago en la ostra y ostión el que juega un papel decisivo en la depuración del cobre de los bivalvos contaminados.

Es interesante señalar que la Tionina a pH=3 y el método del Azul Nilo modificado aplicadas a secciones criostato nos permiten hacer un seguimiento de los procesos de la peroxidación lipídica. La técnica del Negro Sudán B, previa digestión enzimática con pepsina, aplicada a secciones de parafina parece ser muy útil para evidenciar las lipofuscinas insolubles altamente oxidadas. La reacción de Schmorl utilizada por MOORE (1980) para la demostración de lipofuscinas debe ser complementada con reacciones específicas para bloquear otros compuestos positivos a esta reacción como proteínas ricas en cisteína, cistina y otros grupos reductores.

AGRADECIMIENTO.

Agradecemos la colaboración de Isabel Viaña en la elaboración de las técnicas.

BIBLIOGRAFIA.

- BARKA, T.M. & ANDERSON, P.J. (1967). *Histoquímica*. Atika, 716 pp. Madrid.
- BRYAN, G.W. (1979). Bioaccumulation of marine pollutants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B286, 483-505.
- COOMBS, T.L. (1980). Heavy metal pollutants in the aquatic environment. In *Animals and Environmental Fitness*. (R. Gillies, ed.), pp. 283-302. Pergamon Press, Oxford.
- CULLING, C.F.A., ALLISSON, R.T. & BARR, W.T. (1985). *Cellular Pathology Techniques*. 4 th Edition. Butterworth & Co. (Publishers) Ltd.
- ENGEL, D.W. & FOWLER, B.A. (1979). Copper and cadmium induced changes in the metabolism and structure of molluscan gill tissue. IN *Marine Pollution: Functional responses*. (W. Vernberg, F.P. Thurberg, A. Calabrese & F.J. Vernberg, eds), pp. 239-256. Academic Press, Inc., London.
- GEORGE, S.G. (1982). Subcellular pollutant toxicity. (W.B. Vernberg, A. Calabrese, F.P., Thurberg & F.J. Vernberg, eds.), pp. 3-52. Academic Press, New York.
- GEORGE, S.G. (1983a). Heavy metal detoxication in the mussel *Mytilus edulis* Composition of Cd-containing kidney granules (tertiary lysosomes). *Comp. Biochem. Physiol.* 76C, 49-58.
- GEORGE, S.G. (1983b). Heavy metal detoxication in *Mytilus*-Kidney- An *in vitro* study of Cd-and Zn-binding to isolated tertiary lysosomes. *Comp. Physiol.* 76C, 59-65.
- GEORGE, S.G., PIRIE, B.J.S., CHEYNE, A.T., COOMBS, T.L. & GRANT, P.T. (1978). Detoxification of metals by marine bivalves: An ultrastructural study of the compartmentation of copper and zinc in the oyster *Ostrea edulis*. *Mar. Biol.* (Berlin) 48, 147-156.

- GUTIERREZ, M. (1967). Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pesq.* 31, 265–271.
- HENRY, M., HUANG, V., CORNERT, C., BELLUAN, M. & DURBEC, J.P. (1984). Contamination accidentelle par le cadmium d'un mollusque *Ruditapes decussatus*: bioaccumulation et toxicité (Cl50, 96H). *Oceanol. Acta*, 7, 329–335.
- JANSEN, H.H. & SCHOLZ, N. (1979). Uptake and cellular distribution of cadmium in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 55, 133–141.
- LOWE, D.M. (1988). Alterations in cellular structure of *Mytilus edulis* resulting from exposure to environmental contaminants under field and experimental conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 46, 91–100.
- LOWE, D.M. & CLARKE, K.R. (1989). Contaminant-induced changes in the structure of the digestive epithelium of *Mytilus edulis*. *Aquat. Toxicol.* 15, 345–358.
- MARTOJA, R., BALLAN-DUFRANCAIS, S., JEANTET, A.Y., GOUZERH, P., AMIARD, J. C. AMIARD-TRIQUET, C. BERTHET, B. & BAUD, J.P. (1988). Effets chimiques et cytologiques de la contamination expérimentale de l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) par l'argent administré sous forme dissoute et par voie alimentaire. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1827–1841.
- MOORE, M.N. (1980). Cytochemical determination of cellular responses to environmental stressors in marine organisms. *Rapp. P.-V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 129, 7–115.
- MOORE, M.N. (1988). Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 46, 81–89.
- PEARSE, A.G.E. (1972). *Histochemistry: Theoretical and Applied*. 3th Editions, Volume 2. Churchill Livingstone.
- PEARSE, A.G.E. (1985). *Histochemistry: Theoretical and Applied*. 4th Edition, Volume 2. Churchill Livingstone.
- VACCA, L.L. (1985). *Laboratory manual of histochemistry*. Raven Press Books, New York.
- VIARENGO, A. (1989). Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Marine Sciences CRC Critical Review in Aquatic Sciences*, Vol. 1, 295–317.
- VIARENGO, A., PERTICA, M., MANCINELLI, G., ORUNESU, M., ZANICCHI, G., MOORE, M.N. & PIPE, R.K. (1984). Possible role of lysosomes in the detoxification of copper in the digestive gland cells of metal exposed mussels. *Mar. env. Res.* 14, 469–470.
- VIARENGO, A., MOORE, M.N., PERTICA, M., MANCINELLI, G., ZANICCHI, G., & PIPE R.K. (1985). Detoxification of copper in the cells of the digestive gland of mussel: the role of lysosomes and thioneins. *Sci. Tot. Env.* 44, 135–145.

BALANCE DE MATERIA CONTAMINANTE A LA BAHIA DE ALGECIRAS

Clifford C. Wait (* y **), *M. Suárez Castaño* (*), *J. A. Muñoz Leyva* (**).

* Agencia de Medio Ambiente (Junta de Andalucía).

** Dpto. de Química Analítica (Universidad de Cádiz).

RESUMEN.

En el presente trabajo, se hace una aproximación por medio de un balance de materia contaminante aportada a la Bahía de Algeciras, de los principales tipos de contaminación antropogénica, encaminado a priorizar el tipo de actuaciones a seguir según el nivel de incidencia, para el posterior desarrollo de un plan de corrección de los vertidos. Así también, se hace una somera recopilación de las principales campañas de seguimiento de la calidad del medio recientemente hechas.

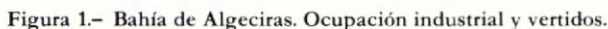
SUMMARY.

Present study, make a approximated balance of pollutant matter poured in Algeciras bay. This balance recount the larges types of antropogenic pollution and it is directed to determine priorities of actions according to incidence level. It is useful for development a program of poured correction. Also, this study make a small review of recently expedition of pollutants measure.

INTRODUCCIÓN.

La Bahía de Algeciras, situada a la misma boca del Estrecho de Gibraltar (Fig. 1), sufre una fuerte presión industrial debido al gran impacto causado por la actividad de un importante polo industrial basado en la industria química pesada, entre las que cabe destacar la existencia de un importante grupo de plantas petroquímicas, dos centrales térmicas, así como industrias siderometalúrgicas, papeleras, astilleros, empresas conserveras, y un sin fin de industrias de pequeña y mediana entidad dispersas por

230



METODOS DE TRABAJO.

Como paso a la ejecución de un Plan de Corrección de los Vertidos Industriales, se ha realizado un balance de materia contaminante al medio al objeto de priorizar las actuaciones y conocer la influencia que en el problema tienen cada uno de los factores.

Para esto, se han contrastado datos procedentes de múltiples fuentes, tales como estudios encargados a empresas colaboradoras de la administración (2 al 6), así como ayuntamientos del área de la bahía, y las propias industrias de la zona.

Por otra parte, se ha hecho una recopilación sobre las múltiples campañas analíticas realizadas en la Bahía de Algeciras encaminadas a medir los niveles de contaminación de la misma (7 al 17), haciendo especial incidencia en datos como los métodos analíticos utilizados, la preservación de la muestra, la ubicación de las estaciones de muestreo, y el número de muestreos realizados (Tabla I).

TABLA I.- Metodologías en las principales campañas analíticas desarrolladas recientemente en la Bahía de Algeciras y sus ríos tributarios.

CAMPAÑAS		U. Ca. Q. T. 1980	U. Ca. Q. T. 1985-6	AICIA 1986	MEDPOL Contox 1988	Toxic. 1989	AICIA C. Com. 1989	INIA 1989	Guad. Manc. Def. M.A. 1987	Palm. Manc. Def. M.A. 1987	AICIA 1988-9	MEDPOL Contox 1988	AICIA 1988-9	AICIA C. Com. 1989
ESPECIFICACIONES														
MUESTREO	MATERIAL	SD	SD	S	S	S	S	SD	SD	SD	S	S	S	S
	METODO	S	S	S	S	S	S	SD	S	S	S	S	S	S
	LOC. ESTACIONES	S	S	S	S	N	S	N	S	S	S	S	S	S
	Nº ESTACIONES	19	15	2	10	SD	10	9	10	9	5	10	22	10
	Nº MUESTREOS	4	12	15	1	1	2	1	6	SD	4	1	4	2
PRESERVACION		SD	SD	S	S	SD	S	SD	N	N	S	S	S	S
TRANS- PORTE	METOD. INDICADO	SD	S	SD	S	SD	SD	SD	SD	SD	SD	S	SD	SD
	T. ENTR. LABOR.	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
ANALISIS	IN SITU	S	S	N	S	N	S	SD	S	S	S	N	N	N
	EN LABORAT.	S	S	S	S	S	S	SD	S	S	S	S	S	S
	Nº PARAMETROS	11	14	2	8	9	21	8	21	21	10	10	11	13
CONCLUSIONES		S	N	SD	SD	S	SD	S	S	S	S	SD	S	SD
AMBITO MUESTREADO		MUESTREOS DE AGUAS DE LA BAHIA								MUESTREO RIOS AGUA RIOS		MUESTREO RIOS SEDIMENTOS		

S = Sí. N = No. SD = Sin Datos.

RESULTADOS EXPERIMENTALES.

Los datos de vertidos anteriormente expuestos (2 al 6), han sido contrastados entre sí, así como con lo declarado por las empresas, y las estimaciones de efluentes y vertidos existentes en los «Handbooks» de la E.P.A. (U.S. Environment Protection Agency). Con estos datos, se ha hecho una primera estimación de los vertidos existentes a la Bahía de Algeciras plasmándose en las tablas adjuntas.

Los resultados de estas tablas, vienen dados en Kilogramos/hora y en Toneladas/Año; al ser en Ingeniería Ambiental estas bases de cálculo más útiles en cuanto a las medidas de emisión de efluentes, al evitar así las apreciaciones erróneas de disminución de la contaminación emitida, si existiere un efecto de dilución en el vertido. Los niveles de concentración de los contaminantes son a su vez, el parámetro determinante en cuanto a la inmisión. Estos niveles de inmisión, dependen tan sólo de la cantidad de materia emitida por unidad de tiempo, y de la capacidad de renovación del medio, ya que el aumento de efluente producido por un efecto de dilución del vertido, suele ser despreciable frente a las magnitudes medioambientales de inmisión.

TABLA II

	INDUSTRIAS						NUCLEOS URBANOS						GRAN TOTAL
	CELUPAL (I)		ACERINOX (I)		TOTAL		ALGECIRAS (2)		LOS BARRIOS (4)		TOTAL		
	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	
PARAMETROS													T/A
DB05	38	304	—	—	38	304	22.3	195.3*	10.9	95.5	33.2	291	595
DQO	80	640	—	—	80	640	44.6*	391	21.8*	191	66.4	582	1222
SS	30	240	1.1	9	31.1	249	20.9	183	15.8	138	36.7	321	570
ACEIT. y GRASAS	—	—	2.5	20	2.5	20	3.7*	32.5	1.8*	15.8	5.5	48	68
FENOLES	—	—	—	—	—	—	50	SD	SD	SD	SD	SD	—
AMONIAO	—	—	0.15	1.2	0.15	1.2	2*	17.5	1*	8.8	3	26	27.2
FOSFORO	—	—	0.009	0.072	0.009	0.072	1.5*	13	0.7*	6	2.2	19	19.1
DETERGENT.	—	—	—	—	—	—	1.5*	13	0.7*	6	2.2	19	19
METALES	—	—	0.013	0.104	0.013	0.104	SD	SD	SD	SD	SD	SD	0.104
TOTAL					151.8	1214.4					149.2	1307	2521
CAUDAL M ³ h	193		46		239		74.3*		36.3*		110.6*		349.6

NOTAS: Números entre paréntesis en la identificación indican los colectores.

* Estimado.

SD. Sin datos de análisis y sin posibilidad de estimación.

TABLA III

PARAMETROS	INDUSTRIAS						NUCLEOS URBANOS						GRAN TOTAL
	INTERQUISA		CARBESA (I)		TOTAL		SAN ROQUE (I)		LOS BARRIOS (2)		TOTAL		
	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	KG/H	T/A	
DB05	3,7	29,6	—	—	3,7	29,6	31	272	1	8,8	32	281	311
DQO	12,7	101,6	0,08	0,64	12,78	102	68*	596	3*	26	71	622	724
SS	4,1	32,8	0,02	0,16	4,1	32,8	51,4	450	2,2	19	53,6	470	503
ACEIT. y GRASAS	0,15	1,2	0,015	0,12	0,165	1,32	5,7*	50	0,2*	2	5,9	52	53
FENOLES	0,003	0,024	—	—	0,003	0,024	SD	SD	SD	SD	SD	SD	0,024
AMONIACO	0,18	1,44	—	—	0,18	1,44	3*	26	0,1*	1	3,1	27	29
FOSFORO	0,49	4	—	—	0,49	4	2*	18	0,1*	1	2,1	19	23
DETERGENT.	—	—	—	—	—	—	2*	18	0,1*	1	2,1	19	19
METALES	—	—	—	—	—	—	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
TOTAL					21,4	171					170	1490	1164
CAUDAL m ³ /h	68,4		0,5		69		114*		5*		119		188

NOTAS: Entre paréntesis se indica número de colectores.

* Estimado.

SD. Sin datos de análisis y sin posibilidad de estimación.

TABLA IV

	INDUSTRIAS						NUCLEOS URBANOS						GRAN TOTAL
	Kg/h						Kg/h						
	A Accinox	B Accinox	CTLB	Cepsa	CTBA	TOTAL	(6) Algeciras	(3) S. Roque	La Linea	Gibraltar	TOTAL		
Parámetros						T/A					T/A	T/A	
DB05	—	—	—	263	—	263	2104	317	45	37,5*	45*	3539	5643
DQO	0,62	—	50	670	—	721	5768	634*	92*	75*	90*	7805	13573
SS	0,02	2,63	60	59	0,014	122	973	319	69	62,5*	75*	4608	5581
ACEIT.-GRASAS	0,1	—	0,04	33	—	33	264	125	8*	6*	75	1279	1543
FENOLES	—	—	—	2,7	—	2,7	21,6	SD	SD	SD	SD	SD	21,6
AMONIACO	0,04	0,45	0,8	28	0,002	29	232	29*	4*	3*	4*	350	582
FOSFORO	0,004	0,01	—	—	—	0,015	0,12	21*	3*	2,5*	3*	258	258
DETERGENT.	—	—	—	—	—	—	—	21*	3*	2,5*	3	258	258
METALES	0,014	0,08	0,002	0,12	—	0,21	1,7	SD	SD	SD	SD	SD	SD
TOTAL	—	—	—	—	—	1171	9364					18098	27459
CAUDAL M³/h	10	56	14	667	2	749		1057*	153*	125*	150*	1485	2234

NOTAS: Entre paréntesis se indica número de colectores.

* Estimado.

SD. Sin datos de análisis y sin posibilidad de estimación.

En las centrales térmicas no se considera el agua de refrigeración.

TABLA V

Tm/año	PALMONES		GUADARRANQUE		DIRECTO BAHIA		TOTALES BAHIA		GRAN TOTAL
	INDUST (2)	ARU (6)	INDUST (2)	ARU (7)	INDUST (5)	ARU (1)	INDUST (9)	ARU (23)	
PARAMETROS									
D. B. O ₅	304	291	30	281	2104	3539	2438	4111	6459
D. Q. O.	604	582	102	622	5768	7805	6510	9009	15519
SS	249	321	33	470	973	4608	1255	5399	6654
ACEITES Y GRASAS	20	48	1,32	52	264	1279	285	1379	1664
FENOLES	—	SD	0,024	SD	21,6	SD	21,6	SD	21,6
AMONIACO	1,2	26	1,44	27	232	350	235	403	638
FOSFORO	0,072	19	4	19	0,12	258	4	296	300
DETERG.	—	19	—	19	—	258	—	296	296
METALES	0,104	SD	—	SD	1,7	SD	1,8	SD	1,8
TOTAL	1214,4	1307	171	1490	9364	18098	10751	20894	31644
CAUDAL m ³ /h	239	111	69	119	749	1485	1057	1715	2772

T/año Paramet.	INDUSTRIAS							NUCLEOS URBANOS					TOTAL
	Celupal	Acerinox	Carbesa	CTLB	CTBA	Cepsa	Interquis.	Algeci.	L. Barrios	S.Roque	La Línea	Gibraltar	
DB05	304	—	—	—	—	2104	30	2972	105	311	328,5	394	6459
DQO	640	5	0,64	400	—	5360	102	5945	217	1402	657	788	15519
SS	240	30	0,16	480	0,1	472	33	2977	157	1054	547	657	6654
ACEIT. y GRASAS	—	21	0,12	0,3	—	264	1,2	1128	18	120	53	657	1664
FENOLES	—	—	—	—	—	22	0,024	SD	SD	SD	SD	SD	22
AMONIACO	—	11,5	—	6,5	0,01	224	1,44	272	10	61	26	35	638
FOSFORO	—	0,2	—	—	—	—	4	197	7	44	22	26	300
DETERGENT.	—	—	—	—	—	—	—	197	7	44	22	26	296
METALES	—	0,85	—	0,01	—	1	—	SD	SD	SD	SD	SD	1,8
Caudal m³	193	112	0,5	14	2	667	68,4	1131	41	114	125	150	2772

INTERPRETACION Y DISCUSION.

En cuanto a las diversas campañas de muestreo recopiladas en el presente estudio, se observa una total falta de homogeneidad en cuanto a variables tan fundamentales a la hora de interpretar los resultados como son las metodologías de análisis, la toma y preservación de la muestra, la ubicación de las estaciones de muestreo y la especificación de los parámetros ambientales en el momento del muestreo (temperatura, insolación, momento de marea, etc.); siendo incluso omitidos algunos aspectos de esta información en algunos de los informes. De todo esto, se desprende la dificultad de comparación de los resultados y por tanto de evaluar la evolución ambiental de la bahía, ya que son pocos los estudios que comprenden más de una campaña de muestreo.

En cuanto a los balances de materia realizados, cabe resaltar los siguientes aspectos:

La contaminación orgánica (D.B.O.5) Y D.Q.O.) y los sólidos en suspensión, así como los aceites y grasas, son lo más destacable de los contaminantes aportados a la Bahía.

De los vertidos totales a la Bahía de Algeciras (2.800 m³/h, según se refleja en la Tabla V), los vertidos urbanos superan a los industriales con el doble de masa contaminante, y un caudal el 70% superior.

Las aguas residuales urbanas (A.R.U.) estimadas responden a una población equivalente de 205.000 habitantes (Bases de cálculo: D.B.O.5 (A.R.U.) = 275 mg/L; 200 L/hab.día) (18). Por el contrario, la contaminación industrial por D.Q.O., equivale a 150.000 habitantes.

Los metales arrojan una cifra muy baja respecto a lo esperado. No es asumible esta cantidad, ni que la carga de metales aportada por Acerinox, sea equivalente a la de Cepsa (debiendo lógicamente ser mayor la primera). No obstante, estudiados los procesos industriales que se desarrollan en las empresas de la zona, no son presumibles aportes alarmantes.

Se ha particularizado el balance de materia por ecosistemas diferenciados y cuasiindependientes. En cuanto al volumen de vertidos directamente recibidos, resalta como más significativo, el grupo de los vertidos directos a la Bahía, si bien este es un medio con mayor capacidad de renovación que los ríos.

El río Palmones, soporta casi la misma carga urbana que el Guadarranque, con una población de unos 15.000 habitantes cada uno, si bien la contaminación industrial es sensiblemente superior en el primero. Esta última a efectos de D.Q.O., representa una población adicional de 15.000 habitantes para el Palmones y 2.500 para el Guadarranque.

La carga industrial que aporta Celupal al río Palmones (15.000 hab. eq.), equivale a la carga urbana aportada a este mismo medio receptor por Algeciras y Los Barrios.

En cuanto a valores de D.Q.O. en general, se tiene que la mayor carga industrial la aporta Cepsa, siendo del mismo orden que la que aporta la población de Algeciras (100.000 hab. aprox.).

El vertido de aceites y grasas de las industrias, es cuatro veces inferior al de Algeciras ciudad, debiéndose esto principalmente a la existencia de talleres y polígonos industriales que vierten sin depurar a las redes de alcantarillado y al generalmente mal estado de funcionamiento de las depuradoras municipales.

Gibraltar, se estima que produce la mitad de contaminación por aguas residuales urbanas que San Roque. Sin embargo, la cantidad de aceites es superior al doble de la emitida por la refinera de CEPESA, con toda seguridad debido a las actividades de los astilleros y la flota militar de la colonia británica.

La actividad industrial de Interquisa, produce un impacto hídrico, que equivale a la mitad del de la población de Los Barrios.

Con la ayuda de la información anteriormente señalada, así como de la información existente sobre la hidrodinámica y las imágenes satélites disponibles del ámbito de actuación, se plantea un plan sistemático de muestras para el seguimiento analítico de la calidad de los efluentes y del medio natural, así como la periódica evaluación de la efectividad y el funcionamiento de las medidas adoptadas.

No obstante, y a la vista de los resultados, se puede inferir que una gran parte de la problemática de la contaminación en las aguas de la Bahía de Algeciras, es de origen urbano (1), siendo por tanto un problema de solución mucho más simple, técnicamente hablando, que si el origen hubiese sido mayoritariamente industrial, así como la solución de este tipo de vertidos es más económica y de competencia mayoritariamente administrativa.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- CLIFFORD C. WAIT; «Inventario de Emisiones Hídricas a la Bahía de Algeciras; Caracterización Química de los Contaminantes»; SS.CC. de Agencia de Medio Ambientes (J.A.); 1988.
- 2.- TECNICAS REUNIDAS; «Informe Medioambiental de las Industrias de la Bahía de Algeciras»; Minist. Industria y Energía; 1981.
- 3.- A.I.C.I.A.; «Caracterización de Efluentes de Empresas del Campo de Gibraltar»; Agencia de Medio Ambiente de la J.A.; 1988.
- 4.- INCOHINSA; «Caracterización de Vertidos Industriales»; Agencia de Medio Ambiente de la J.A.; 1988.
- 5.- INITEC; «Estudio Previo del Abastecimiento y Saneamiento Integrados de Núcleos Urbanos del Campo de Gibraltar (Cádiz)»; Consejería de Obras Públicas de la J.A.; 1987.
- 6.- MANCOM. PARA LA DEFENSA DEL MEDIO AMBIENTE; «Memoria de Análisis de Efluentes Industriales»; 1986 a 1988.

- 7.- MANUEL VEZ, M.P.; GALAN VALLEJO, M.; SALES MARQUEZ, D.; «Contaminación Registrada en Aguas de la Bahía de Algeciras»; 1980.
- 8.- DEPARTAMENTO DE QUIMICA TECNICA (Univ. de Cádiz); «Estudio de la Calidad de las Aguas Superficiales de la Provincia de Cádiz»; Diputación Provincial de Cádiz; 1986.
- 9.- A.I.C.I.A.; «Estudio de la Calidad de las Aguas de la Bahía de Algeciras»; 1986.
- 10.- CONTOX, S.A.; «Programa MEDPOL – Fase II, de la C.E.E.»; D.G.M.A. del M.O.P.U.; 1988.
- 11.- REPETO; «Análisis Muestras de la Bahía de Algeciras»; Inst. Toxicología de Sevilla; 1989.
- 12.- A.I.C.I.A.; «Análisis de las Aguas de la Bahía de Algeciras»; Cámara de Comercio de Algeciras; 1989.
- 13.- TARAZONA, J.V.; «Estudio Toxicológico de la Bahía de Algeciras»; I.N.I.A.; 1989.
- 14.- A.I.C.I.A. «Determinación del Impacto Ambiental de los Vertidos Industriales en el Litoral Andaluz»; SS.CC. de la Agencia de Medio Ambiente (J.A.); 1988.
- 15.- SENRRA, I.; «Estudio Limnológico del Río Palmones»; Mancom. Defensa del Medio Ambiente de San Roque – Los Barrios; 1987.
- 16.- PEREZ AGUIRREZ, M.A.; «Estudio de las Aguas del Río Guadarranque»; Defensa del Medio Ambiente de San Roque – Los Barrios; 1987.
- 17.- CONSEJERIA DE SALUD Y CONSUMO (J.A.); «La Calidad Sanitaria y Ambiental de las Playas Andaluzas»; Ed. Mezquita; 1984.
- 18.- LORA SORIA, F.; MIRO CHAVARRIA, J.; «Técnicas de Defensa del Medio Ambiente»; Ed. Labor. Barcelona; 1978.

COMPOSICION DE LOS AGLOMERADOS DE ALQUITRAN EN PLAYAS DE LA ISLA DE TENERIFE ESTUDIO PRELIMINAR

J. E. Conde, C. Díaz y F. J. García Montelongo.

Dpto. de Química Analítica, Bromatología y Toxicología.

Universidad de La Laguna.

38204 - La Laguna.

RESUMEN.

Se optimiza un método para el análisis de muestras de crudos de petróleo por cromatografía gaseosa y Espectrofluorimetría y se realiza un estudio sobre la recuperación de los distintos hidrocarburos. A continuación se aplica el método a 12 muestras de aglomerados de alquitrán procedentes de playas de la isla de Tenerife. Se realizan los espectros de fluorescencia sincrona y se comparan con varios crudos.

SUMMARY.

A method for the quantitative determination of aliphatic and aromatic hydrocarbons using gas chromatography and spectrofluorimetry has been optimized and a recovery study carried out. The method has been applied to 12 samples of «Tar balls» coming from several beaches of the isle of Tenerife. Besides the synchronous spectrofluorimetric spectra of several samples and crude petroleum references are compared.

INTRODUCCION.

El uso del petróleo como principal fuente de energía y materia prima en la industria química ha provocado, no sólo, una situación de contaminación crónica sino, también, contaminaciones puntuales masivas quizás aún más importantes del medio marino. (9, 10, 14, 15). Recordemos como ejemplos los recientes accidentes marítimos de los petroleros Amoco Cádiz, Exxon Valdés, Kark 5 y Aragón, así como la reciente marea negra en las islas de Madeira causada por este último. Según una estimación de

la UNEP de 1978, la cantidad de hidrocarburos que se vierten al mar es de unas $6.1 \cdot 10^6$ Tm/año (16).

Por su situación geográfica, Canarias es una zona de paso muy importante para los petroleros, no sólo para los que abastecen de crudo a la refinería de Tenerife y de productos refinados a las restantes islas sino, también, para aquellos cuyo recorrido va de América a Europa y viceversa, y para los supertanques que realizan su travesía por el Cabo de Buena Esperanza. Este elevado tráfico de buques cisterna conlleva, irremediablemente, un elevado riesgo de contaminación para nuestras islas debido, fundamentalmente, a las operaciones de limpieza de tanques que efectúan estos barcos una vez descargados. Dichas operaciones se deberían realizar en aguas internacionales, pero la Corriente de Canarias desplaza lenta e inexorablemente la contaminación hasta las costas insulares. La acción de esta corriente es de tal amplitud que podría aproximar incluso los vertidos realizados a la salida del Mar Mediterráneo y los realizados en pleno Océano Atlántico.

El objetivo del presente trabajo, todavía en fase de desarrollo, es la determinación por cromatografía gaseosa y espectrofluorimetría de la composición en hidrocarburos tanto alifáticos como aromáticos, de los aglomerados de alquitrán («Tar Balls») presentes en playas de la isla de Tenerife, al tiempo que con ayuda de partes meteorológicas y el conocimiento de las corrientes marinas se pretende establecer, de manera aproximada, el momento y lugar en que se produjo el posible vertido.

MATERIAL Y METODOS.

Las playas donde se realiza el muestreo por espacio de un año se han elegido uniformemente a lo largo de la costa de la isla de Tenerife procurando, asimismo que sean de uso frecuente por los bañistas (Figura 1). Se han incluido en este trabajo dos



FIGURA 1.—Distribución de los puntos de muestreo.

muestras procedentes de la isla de La Graciosa, situado al noreste del Archipiélago y recogidas en fechas posteriores a los accidentes de los petroleros Kark 5 y Aragón, con objeto de establecer su posible relación con dichos accidentes.

El muestreo se realiza al azar tomando unidades de aglomerados de manera que representen la contaminación existente en la playa en cuestión, las muestras se guardan etiquetadas en papel de aluminio y se conservan a -20°C hasta el momento de proceder a su análisis.

Las muestras se extraen a reflujo con *n*-hexano el tiempo suficiente para conseguir una perfecta disgregación y se asegure la total disolución de los hidrocarburos y posteriormente, se centrifugan para separar el disolvente. Una alícuota de la fase líquida se dispone en una columna de cromatografía formada por 8 g de gel de sílice y 8 g de alúmina neutra y se eluye con 30 ml de *n*-hexano (H. alifáticos) y 60 ml de mezcla *n*-hexano-diclorometano 8:2 (H. aromáticos) (4,5,16).

El análisis de la primera fracción se realiza por cromatografía gaseosa (Varian 3300), con detector de ionización de llama y columna capilar SPB-5 15×0.25 mm. (inyector 220°C , detector 320°C , portador (N_2) 4 ml/min, columna: 2 min. a 90°C , rampa $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$. hasta 280°C , 30 min. a 280°C , y acondicionamiento 2 min. a 90°C).

La segunda fracción se analiza por espectrofluorimetría (Perkin Elmer MPF 44A), $\lambda_{\text{ex}} = 310 \text{ m}$, $\lambda_{\text{em}} = 359 \text{ m}$, rendijas = 6 m, utilizando criseno como patrón.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Como fase previa de nuestro trabajo se realizó un estudio de la separación cromatográfica de las dos fracciones de hidrocarburos alifáticos y aromáticos con objeto de determinar el volumen de *n*-hexano necesario para la eluir completamente la fracción de hidrocarburos aliáticos sin eluir los aromáticos. Para ello se preparó una disolución de hidrocarburos alifáticos conteniendo 25 m g/ml de cada uno de los hidrocarburos C11 a C30 y 50 m g/ml de naftaleno, fluoreno, antraceno, fluoranteno y pireno, disponiéndose 2 ml en la columna doble gel de sílice-alúmina. Se eluyeron 5×10 ml fracciones de *n*-hexano y 5×20 ml fracciones con *n*-hexano - diclorometano 8:2.

Los resultados obtenidos, Tabla 1, permiten observar que en la primera fracción de hexano comienzan a eluirse los hidrocarburos alifáticos, preferentemente aquellos de número par de átomos de carbono debido, posiblemente, a su mayor polaridad.

En las fracciones 1-2 y 1-3 se detecta la presencia de todos los hidrocarburos alifáticos de la mezcla inicial. En la fracción 1-4 ya no se detecta la presencia de hidrocarburos alifáticos ni tampoco de aromáticos, por lo que se concluye que es de 30 ml de *n*-hexano el volumen correcto para la separación total de aquellos.

En la fracción 1-5 se detecta ya el naftaleno y en la cuarta fracción de *n*-hexano - diclorometano ya no se han eluido todos los aromáticos.

TABLA I
Estudio de la separación por cromatografía en columna de las fracciones cluidas.

Hidrocarburo	n - hexano					n - hexano - diclorometano (8:2)				
	1-1 10 ml	1-2 10 ml	1-3 10 ml	1-4 10 ml	1-5 10 ml	2-1 20 ml	2-2 20 ml	2-3 20 ml	2-4 20 ml	2-5 20 ml
C11	0	181772	182220	0	0	0	0	0	0	0
C12	50206	79240	62611	0	0	0	0	0	0	0
C13	9094	31479	22840	0	0	0	0	0	0	0
C14	19973	38202	21751	0	0	0	0	0	0	0
C15	0	26744	20175	0	0	0	0	0	0	0
C16	17826	33520	21404	0	0	0	0	0	0	0
C17	0	19980	15545	0	0	0	0	0	0	0
C18	10267	34625	23535	0	0	0	0	0	0	0
C19	0	25638	18463	0	0	0	0	0	0	0
C20	5135	21397	13363	0	0	0	0	0	0	0
C21	0	16262	10094	0	0	0	0	0	0	0
C22	0	16840	9483	0	0	0	0	0	0	0
C23	0	30299	16406	0	0	0	0	0	0	0
C24	0	15537	7665	0	0	0	0	0	0	0
C25	0	14630	7991	0	0	0	0	0	0	0
C26	5747	16202	10678	0	0	0	0	0	0	0
C28	0	61327	52600	0	0	0	0	0	0	0
C30	7802	32725	30751	0	0	0	0	0	0	0
Naftaleno	0	0	0	0	387934	8800	9366	0	0	0
Fluoreno	0	0	0	0	0	3252	3187	1843	0	0
Antraceno	0	0	0	0	0	74953	74783	2723	0	0
Fluoranteno	0	0	0	0	0	10907	10453	2903	0	0
Pireno	0	0	0	0	0	0	0	3949	0	0

* Todos los valores dados en áreas e pico absolutas.

TABLA II
Estudio de Recuperación.

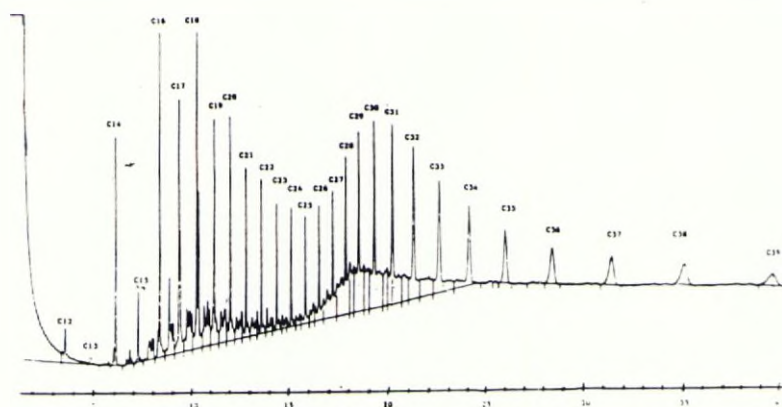
Hidrocarburo	Fracción 1	Fracción 2
C12.....	78,94	0
C13.....	61,88	0
C14.....	68,42	0
C15.....	75,09	0
C16.....	79,72	0
C17.....	85,11	0
C18.....	89,99	0
C19.....	94,90	0
C20.....	100,94	0
C21.....	101,39	0
C22.....	104,50	0
C23.....	95,02	0
C24.....	96,99	0
C25.....	100,72	0
C26.....	106,83	0
C28.....	96,42 +	0
C30.....	85,55 +	0
Naftaleno	0	80,87
Fluoreno	0	26,31
Antraceno	0	42,43
Fluoranteno	0	20,60
Pireno	0	43,85

+ Calculado por altura de pico.

La Tabla 2 muestra los resultados correspondientes al estudio de recuperación realizado. Se puede observar que los primeros hidrocarburos alifáticos no se recuperan cuantitativamente y que las recuperaciones van aumentando progresivamente debido a pérdidas de los hidrocarburos más volátiles. A partir del C19 (p.e. 329,7 °C) los porcentajes de recuperación se sitúan en torno al 100%. Los porcentajes señalados (+) se han calculado a partir de las alturas de pico, dado el error que se comete por el efecto de cola del hexano y el aumento de la línea base debido al efecto de la temperatura; el resto se calculan a partir de áreas de pico.

Los porcentajes obtenidos para los componentes de la segunda fracción son realmente bajos. Esto puede ser debido a la fotodescomposición de los hidrocarburos, a pesar de las precauciones tomadas, y su transformación en otros productos, lo que justificaría la aparición de picos inesperados a tiempos de retención próximos a los de los hidrocarburos aromáticos patrón.

En la Figura 2 se presentan los cromatogramas tipo de la primera y segunda fracción de una muestra, así como el correspondiente a los patrones C11 – C30. En la primera fracción se observa la presencia clara de toda la serie homóloga incluso los superiores al C30. Por lo que se refiere a la segunda fracción, no se observa la presencia de ningún hidrocarburo alifático, lo cual demuestra la buena separación conseguida por el método ya optimizado. En esta segunda fracción se observa la presencia de picos a tiempos de retención de, aproximadamente, 12 minutos que corresponden a los hidrocarburos aromáticos. No obstante los picos son menos intensos que los que corresponden a los alifáticos. Estos cromatogramas tienen el mismo desarrollo general que los descritos en la bibliografía, aunque es de destacar una mejor resolución y una línea base más uniforme que en muchas de las referencias bibliográficas. Esto es debido, posiblemente, al uso de columnas capilares que dan mejores resultados que las columnas rellenas clásicas que se han utilizado para la mayoría de los trabajos y a la fase de purificación previa al análisis por cromatografía gaseosa. (1–3, 11–13).



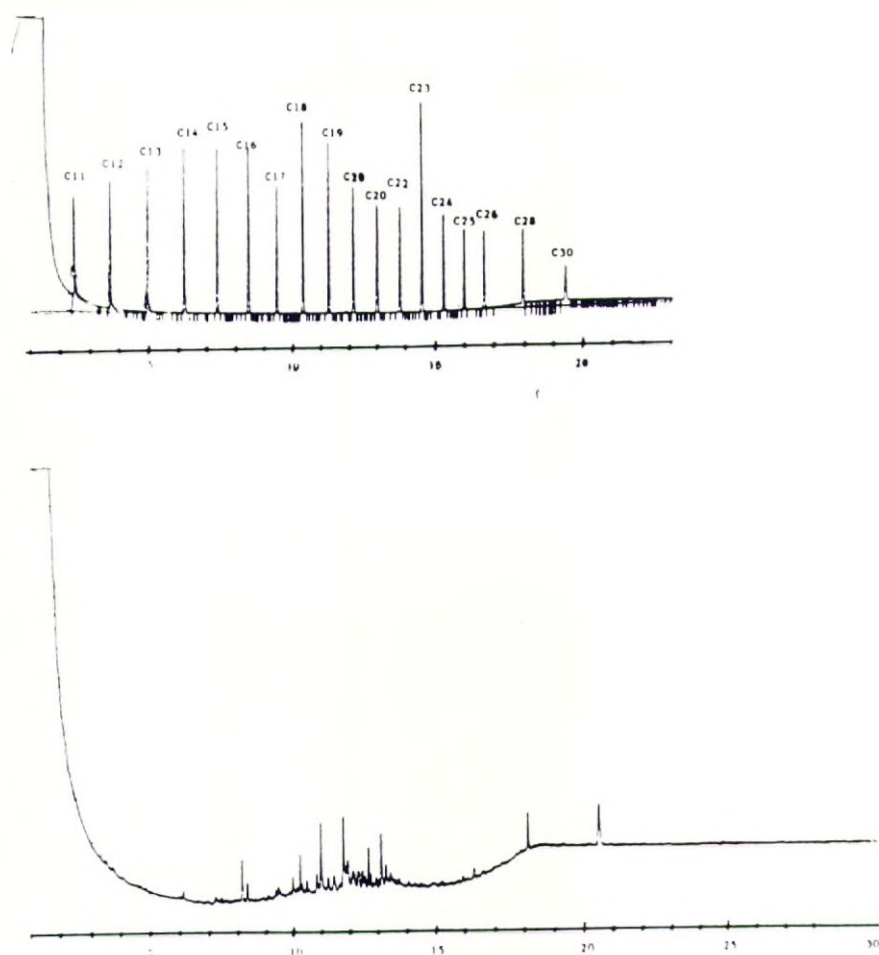


FIGURA 2.

En la Tabla 3 se agrupan los resultados obtenidos para las catorce muestras de aglomerados analizadas. Se observa que las concentraciones de hidrocarburos alifáticos son del orden de unas 200 veces superiores a las de los aromáticos y que los hidrocarburos alifáticos de bajo peso molecular ($\leq C_{15}$) se encuentran en menor concentración que los superiores probablemente por su mayor volatilidad. El resto de los hidrocarburos se distribuyen de forma diferente según la muestra de que se trate, probablemente debido al diferente origen de los crudos, con contenidos que van desde 0,07 mg/g del C14 de la muestra tomada en Playa de San Juan, hasta los 8,18 mg/g del C16 de la muestra de la Playa de Candelaria.

Hay que destacar la zona alrededor del C20 como aquella en que se detectan mayores concentraciones de hidrocarburos lineales con medias que oscilan entre 4,8 y 3,6 mg/g.

Las cantidades totales de hidrocarburos alifáticos oscilan desde un máximo de 65,86 (Candelaria), hasta un mínimo de 14,6 mg/g (El Médano). Por el contrario, los aromáticos oscilan desde 0,291 mg/g (El Médano), hasta 0,108 mg/g (Puertito de Adeje).

Además se ha calculado la relación Pristano/Fitano a partir de las correspondientes áreas de pico, observándose valores similares a los descritos en el bibliografía (1).

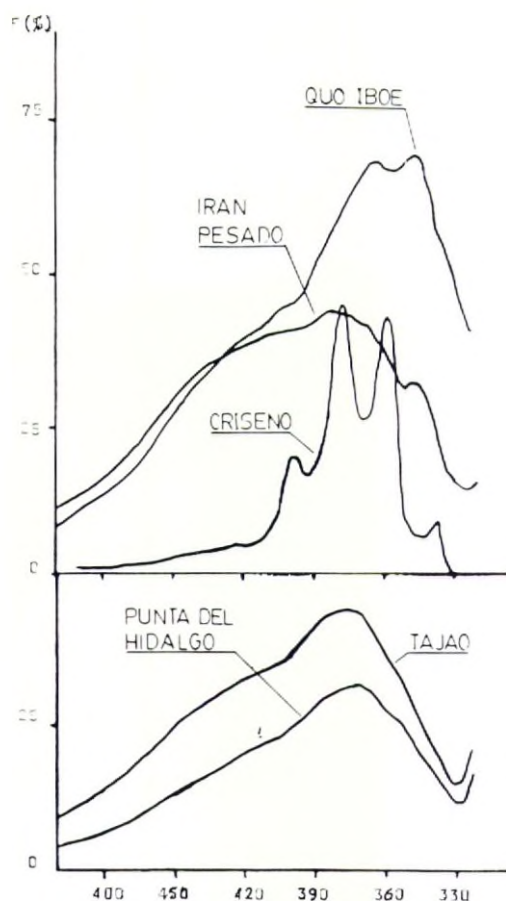
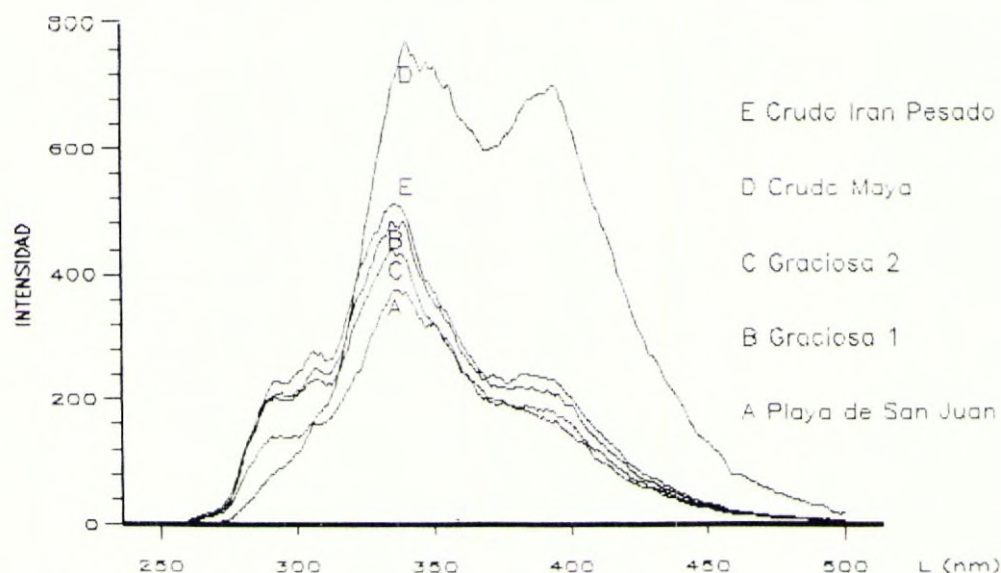


FIGURA 3.

En la Figura 3 se muestran los espectros de emisión ($\lambda_{ex} = 310$ nm) de los patrones Criseno y crudos Quo Iboe e Iran pesado y los correspondientes a dos muestras recogidas en Punta del Hidalgo y Tajao, observándose perfectamente la gran similitud de ambos espectros y del patrón de crudo Irán pesado, lo cual refleja la posible procedencia mayoritaria de estos aglomerados.

FIGURA 4.



Asímismo se han realizado los espectros de fluorimetría sincrona ($\Delta\lambda = 24$ n/m) de las muestras número 11 y de las recogidas en la isla de la Graciosa y se han comparado con los patrones de crudo Irán Pesado y crudo Maya (Figura 4), encontrándose una gran similitud entre los espectros sincronos de aquellas muestras y el correspondiente al crudo Irán Pesado, siendo muy diferentes del espectro sincrono obtenido para el crudo Maya.

Ello nos hace suponer que aquellas muestras proceden del vertido que se originó en el accidente del buque tanque Kark 5, que como es sabido, en su ruta tras el accidente rodeó por el Norte al Archipiélago Canario en sentido Este-Oeste antes de virar al Sur hacia su punto de trasvase.

AGRADECIMIENTO.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo dentro del proyecto DGICYT PB88-0427.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) C. J. GLOVER Y J. A. BULLIN. (1989). Identification of heavy residual oils by GC and GC-MS. *J. Environ. Sci. Health. A24*(1), 57-75.

- (2) R. JOHNSTON: en O. Kinne (Ed) «Marine Ecology». Volume V, Part 3, Wiley. NY, (1984), pp. 1475-1488.
- (3) R. JOHNSTON: en O. Kinne (Ed) «Marine Ecology». Volume V, Part 3, Wiley. NY, (1984), pp. 1485-1492.
- (4) R. J. LAW, T. W. FILEMAN Y J. E. POSTMAN. (1988). Aquatic Environment Protection: Analytical Methods, 2, Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Directorate of Fisheries Research, Lowestoft, England.
- (5) HASSAN AWAD. (1981). Comparative studies on analytical methods for de assessment of petroleum contamination in the marine environment. Mar. Chem., **10**, 417-430.
- (6) J. W. FARRINTON Y J. G. QUINN. (1973). Petroleum hydrocarbons in Narragansett Bay. Est. Coast. Mar. Sci., **1**, 71-79.
- (7) P. JOHN Y I. SOUTAR. (1976). Identification of crude oils by Synchronous Excitation Spectrofluorimetry. Anal. Chem., **48**, 520-524.
- (8) M. BLUMER, M. EHRHARDT Y J. H. JONES. (1973). The environmental fate of stranded crude oil. Deep Sea Res., **20**, 239-259.
- (9) J. E. CORREDOR, J. MORELL Y A. MENDEZ. (1983). Pelagic Petroleum Pollution of the South-west Coast of Puerto Rico, Mar. Poll. Bull., **14**, 166-168.
- (10) A. A. Z. DOUABÜL, H. T. AL-SAAD, S. A. DARMAIAN. (1984). Distribution of Petroleum residues in Surficial Sediments from Shatt Al-Arab River and the North West Region of Arabian Gulf. Mar. Poll. Bull., **15**, 198-200.
- (11) T. I. BALKAS, I. SALIHOGLU, A. F. GAINES, M. SUNAY Y J. MATTHEWS. (1982). Characterization of floating and Sinking Tar Balls in the Marine Environment. Mar. Poll. Bull., **13**, 202-205.
- (12) J. L. MARENCO SIERRA. (1986). Análisis de la contaminación por hidrocarburos producida por la explosión de dos petroleros en la Bahía de Algeciras, III Seminario de Química Marina UNED-ANQUE, Cádiz.
- (13) J. D. DE ARMAS. (1986). Contaminación superficial por hidrocarburos del Mar de Alborán. III Seminario de Química Marina UNED-ANQUE. Cádiz.
- (14) J. H. VANDERMEULEN, D. E. BUCKLEY, E. M. LEVY, B. F. N. LONG, P. MCLAREN Y P. G. WELLS. (1979). Sediment Penetration of Amoco Cádiz Oil, Potencial for Future Release and Toxicity. Mar. Poll. Bull., **10**, 222-227.
- (15) J. MATTSSON Y C. LEHTINEN. (1985). Increased Levels of Petroleum, Hydrocarbons in the Surface Sediments of Swedish Coastal Waters. Mar. Poll. Bull., **16**, 390-395.
- (16) Metodologie analitiche per lo studio della qualità dell'ambiente marino. (1983). Consiglio Nazionale delle Ricerche. Génova.
- (17) R. J. LAW; Determination of Petroleum Hydrocarbons in Water, Fish and Sediments Following the Ekofisk Blow-Out. Mar. Poll. Bull., **9**, 321-324.

DISTRIBUCION DE MICROCONTAMINANTES EN SEDIMENTOS SUPERFICIALES DE LA BAHIA DE ZARAUTZ (GUIPUZCOA)

A. Ramos, B. Alonso, M. J. Sola, L. Cantón, I. Legórburu.
Lab. Contaminación (Dpto. Química Aplicada) Univ. País Vasco.
Apdo. 1072 20080-SAN SEBASTIAN.

RESUMEN.

Se ha estudiado la distribución de microcontaminantes en la Bahía de Zarautz. Los metales se determinaron por digestión ácida y espectrofotometría de absorción atómica, y los hidrocarburos por extracción, con saponificación previa, separación cromatográfica y análisis de tres fracciones (alifáticos y aromáticos de alto y bajo peso molecular) por cromatografía de gases en columna capilar.

El principal foco de contaminación es el río Oria, situado al Este de la bahía. Los aportes de este río incluyen metales pesados e hidrocarburos de origen pirolítico e industrial. Se observa asimismo un aporte de compuestos hidrocarbonados de origen continental natural.

SUMMARY.

The distribution of microcontaminants in the Zarautz Bay has been studied. Heavy metals were analyzed by atomic absorption spectroscopy, after digestion. Three fractions of hydrocarbons (alifatic and low and high molecular weight aromatics) were separated following an extraction procedure. Their analysis was done by gas chromatography in capilar column.

The river Oria is the most important source of pollutants: Heavy metals and hydrocarbons of antropogenic origin. Hydrocarbons of natural (continental) origin are also detected.

INTRODUCCION.

El desarrollo urbano e industrial con sus consecuentes modificaciones en el entorno natural han provocado la ejecución de estudios medio ambientales que permitan conocer y predecir el tipo de polución presente en nuestro entorno. El caso que se presenta corresponde a un estudio previo a la construcción del Emisario Submarino de Zarautz (Guipúzcoa), Figura 1, con una longitud de 1 km y que desemboca a 30 m de profundidad. Su diseño, con 10 difusores colocados a lo largo de los 42 m finales, responde a un caudal máximo de 450 l s^{-1} con una carga máxima equivalente a 50.000 habitantes.

El objetivo del estudio fue la caracterización de la zona sometida al futuro impacto del emisario mediante la recogida de información hidrológica, de corrientes, de la dinámica sedimentaria, circulación de las aguas etc, incluyendo, además, una caracterización del sedimento marino, donde se llevó a cabo la determinación de microcontaminantes: Metales Pesados e Hidrocarburos.

MUESTREO Y ANALISIS.

Los puntos de muestreo corresponden a los señalados en la Figura 1. Se realizaron cuatro tomas en julio, octubre, diciembre de 1988 y febrero de 1989. Los sedimentos se recogieron mediante draga Van-Veen, separando muestra, tanto para metales pesados (frascos de polietileno), como para hidrocarburos (frascos de vidrio). Se conservaron por congelación a -20°C .

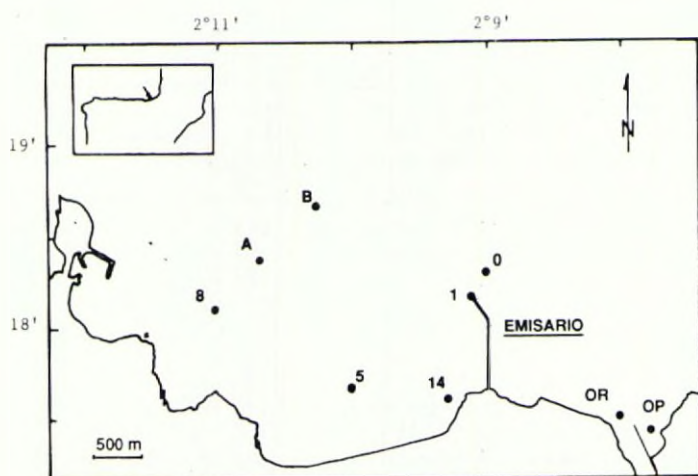


Figura 1.- Área de estudio y localización del emisario y los puntos de muestreo.

En la figura 2 se presenta el método seguido para el análisis de hidrocarburos en los sedimentos. Se obtuvieron tres fracciones, (I fracción: Hidrocarburos Saturados e Insaturados, II fracción: Hidrocarburos mono y di aromáticos, III fracción: Hidrocarburos poliaromáticos). Las fracciones I y III se analizaron por Cromatografía de Gases, PERKIN-ELMER 8310, con detector de ionización de llama, columna capilar SPB-5 (30 m \times 0.32 mm) y programa de temperatura de 60°C a 300°C a 6°/min. La cuantificación de los compuestos resueltos se realizó mediante patrón externo de cuatro hidrocarburos: n-C₃₆. La masa compleja no resuelta (UCM) se cuantificó a partir del área del n-C₂₂.

La determinación de los metales pesados se llevó a cabo sobre la fracción total y la < 63 μ m. La separación de la fracción fina se efectuó por tamizado en húmedo. La disolución de los sedimentos se efectuó, tras calcinación, con una mezcla de ácidos nítrico, clorhídrico y fluorhídrico en bombas de digestión a 120°C analizándose por Espectrofotometría de Absorción Atómica, PERKIN-ELMER 2380, con mechero aire-acetileno y cámara de grafito HGA-500. El mercurio se determinó en una alícuota secada al aire, digerida con dicromato en medio ácido y por método de vapor en frío.

RESULTADOS Y DISCUSION.

La distribución de metales pesados en los sedimentos superficiales indica la presencia de un foco contaminante, identificado con los aportes de material continental acarreados por el río Oria.

Tabla 1.- Valor medio y rango de la concentración de metal en los sedimentos de la bahía de Zaurautz, expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$.

PUNTO	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
SEDIMENTO TOTAL								
1	0.40	90	20	3.2	340	70	60	150
	0.20-0.40	70-110	10-20	27900-3600	280-400	50-8	40-70	150-150
14	0.20	20	20	15300	470	40	20	70
	0.20-0.20	10-30	10-20	17800-34600	440-500	20-60	20-20	60-70
5	0.20	40	20	20600	390	30	20	80
	0.10-0.30	10-60	10-60	9400-33900	220-540	20-80	10-70	50-140
8	0.20	50	20	26600	270	30	30	90
	0.20-0.20	20-40	10-30	19300-33900	210-330	30-30	20-30	70-100
OR	0.30	90	20	36900	570	80	60	120
	0.20-0.30	40-140	10-30	22000-51900	250-900	50-120	20-90	80-170
OP	0.20	60	20	35400	450	50	30	130
	0.10-0.20	60-70	10-30	24700-47000	380-520	40-70	20-50	120-130
0	0.20	100	20	36600	280	50	30	150
A	0.50	30	30	17900	320	30	20	40
B	0.30	100	30	35600	260	40	20	110
Fracción < 63μm								
1	0.50	110	50	34000	350	60	400	200
	0.30-0.30	30-140	30-80	29000-44400	290-450	60-80	60-100	180-210
14	0.50	40	20	19500	370	50	60	180
	0.40-0.60	30-70	20-20	16000-28000	220-520	30-80	40-70	100-250
5	0.40	70	30	30500	460	40	30	180
	0.40-0.60	20-80	20-40	22400-35700	280-640	30-50	20-40	150-200
8	0.40	70	50	32700	310	50	50	170
	0.20-0.60	40-100	20-80	29800-35700	290-340	40-60	20-90	110-270
OR	0.40	110	50	40000	660	80	90	130
	0.40-0.50	60-150	40-60	25400-54700	340-990	40-130	90-100	80-180
OP	0.40	70	20	37500	520	70	80	130
	0.30-0.40	70-80	20-30	27100-48200	410-630	50-80	70-90	130-140
0	0.50	150	40	36000	310	60	70	190
	0.20-0.60	70-220	20-60	28000-44000	290-330	30-80	30-110	90-280
A	0.60	40	60	26000	380	40	30	140
B	0.40	270	40	38000	300	70	40	170

Tabla 2.- Coeficientes de correlación de la concentración de metales con la distancia a la ría de Orio.

	r	P
Cr	-0.437	0.035
Fe	-0.406	0.047
Pb	-0.500	0.017

En una primera aproximación, podemos suponer que la pluma de difusión de las aguas de este río se abre bajo la influencia de la corriente costera, dispersando los contaminantes según trayectorias similares a las que se presentan en la Fig. 2. La distribución resultante de esta situación sería similar a la variación de concentración encontrada en el caso de varios metales: La representación de los valores medios frente a la distancia (en unidades arbitrarias) a la desembocadura del río Oria, medida a lo largo de la trayectoria citada, presenta un carácter claramente descendente (Fig. 3). Esta variación resulta estadísticamente significativa para varios metales (Tabla 2) lo que apoya la hipótesis de que el río Oria es la principal fuente de metales del área.

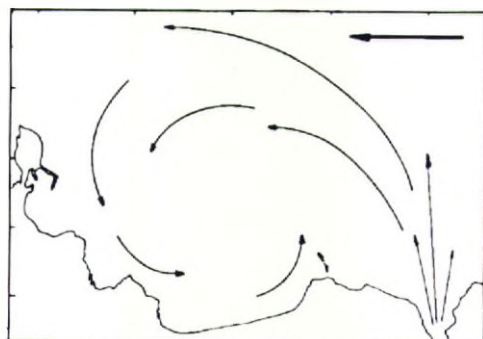


Figura 2.- Circulación de las aguas del río Oria en la zona de la bahía de Zarautz.

En la Tabla 3 se muestran los parámetros de caracterización de la materia orgánica correspondiente a la 1ª fracción (Hidrocarburos Saturados e Insaturados):

– El índice de predominio de carbono (CPI) es indicador de los hidrocarburos saturados resueltos (HCs). El CPI marino, determinado desde el primer hidrocarburo resuelto detectado hasta el $n-C_{25}$ incluido, marca la contribución realizada por las algas marinas y zooplancton. El CPI terrestre, del $n-C_{26}$ en adelante, refleja el aporte debido a las plantas superiores. Ambos se engloban en el CPI total que abarca desde el primero hasta el último hidrocarburo detectado cromatográficamente.

Tabla 3.- Parámetros de caracterización de hidrocarburos saturados en los sedimentos de la bahía de Zarautz.

Punto	Fecha	CPI total	CPI terr.	CPI mar.	CPI terr/ mar.	C ₁₇ / pris	C ₁₈ / phyt.	Pris. Phyt.	HC(*) total	UCM (*)	Res./ NoRes.
0	jul 88	1.65	1.98	1.14	1.73	1.28	1.21	1.04	0.86	22.96	0.04
	oct. 88	1.72	2.24	0.99	2.26	0.93	1.60	1.50	2.25	77.29	0.03
1	jul. 88	1.08	1.02	1.15	0.89	2.35	3.00	1.24	1.13	4.82	0.23
	oct. 88	1.80	2.26	1.08	2.09	1.00	1.40	1.20	1.67	59.27	0.03
	dic. 88	1.68	1.85	1.17	1.58	0.75	1.00	1.60	0.73	14.85	0.05
5	jul. 88	1.11	1.23	0.92	1.34	1.81	2.28	1.00	0.30	2.27	0.13
	oct. 88	1.16	1.33	0.94	1.41	1.86	2.28	1.00	0.57	7.83	0.07
	dic. 88	1.97	2.71	1.13	2.40	1.75	2.55	1.33	0.23	8.91	0.02
	feb. 89	1.04	1.23	0.73	1.67	1.24	1.92	1.42	0.75	5.32	0.24
8	jul. 88	1.67	2.00	1.15	1.74	1.09	1.25	1.38	1.25	34.94	0.03
	oct. 88	0.97	1.05	0.86	1.22	0.81	2.00	1.45	0.30	4.35	0.07
	feb. 89	0.97	1.15	0.78	1.47	1.33	1.82	1.24	0.66	2.80	0.24
14	jul. 88	1.07	1.10	1.03	1.07	2.00	2.52	1.24	1.10	5.45	0.20
	dic. 88	1.42	1.66	0.86	1.93	2.00	3.00	0.83	0.55	3.70	0.15
	feb. 89	0.97	1.15	0.78	1.47	1.33	1.82	1.24	0.38	2.27	0.16
Oria P.	dic. 88	2.06	2.42	1.22	1.98	1.25	1.67	1.33	0.23	8.91	0.02
	feb. 89	1.24	1.74	0.60	2.90	1.29	1.88	0.88	0.59	6.98	0.08
Oria R.	dic. 88	2.90	4.17	0.91	4.58	1.09	1.45	1.00	0.21	5.73	0.04
	feb. 89	1.21	1.62	0.72	2.25	1.21	1.85	0.95	0.44	5.92	0.07

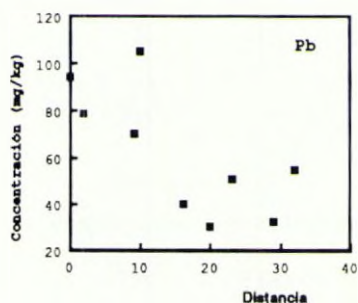


Figura 3.- Variación de la concentración de plomo con la distancia a la ría de Orio.

- Los isoprenoides: Pristano y Phytano. El primero tiene un origen planctónico con procedencia de la clorofila «a» presente en el fitoplancton en cantidades de, aproximadamente, 3% del contenido de la materia orgánica (Didyk, B. M. et al 1978). El Phytano no aparece como tal en la naturaleza. Se le atribuye un origen diagenético

o termocatalítico, encontrándose preferentemente en sedimentos antiguos y crudos del petróleo (Brooks J.D. et al 1969). Su presencia es indicativa de cierto grado de maduración de la materia orgánica, tal como se aprecia en el estudio del petróleo donde mantiene niveles muy parejos al Pristano con relaciones Pristano/Phytano cercanas a la unidad.

– Paralelamente a la determinación de los HCs, se evaluó la UCM representada como la envolvente sobre la que emergen los HCs, y a la que se atribuye un origen antropogénico, no natural, de procedencia petrogénica (Matsumoto G., 1982).

A la vista de los resultados obtenidos se pueden señalar las siguientes características:

1.– En todos los puntos y a lo largo de los distintos periodos del año, se observa una situación de máximo de HCs impares: $n-C_{27}$, $n-C_{29}$, $n-C_{31}$ (CPI terrestre) que tiene como origen el aporte realizado por las plantas superiores.

2.– Se ha detectado, de forma generalizada, la presencia de UCM. Los puntos 1 y 0 son los que poseen mayores valores, siendo en octubre donde ambos alcanzan máximos de media 10 a 15 veces superiores al resto de las muestras, $59.27 \mu\text{g/g}$, peso seco y $77.29 \mu\text{g/g}$, peso seco. El punto 8 presenta como excepción, en el mes de julio, un valor equiparable a los de los puntos 1 y 0. Este hecho se consideró puntual, y en consonancia con el resto de los análisis y datos expuestos en el capítulo de Sedimentología del Estudio presentado por el Servicio de Investigaciones Oceanográficas del Gobierno Vasco (1989).

3.– En todas las muestras se han identificado los isoprenoides Pristano y Phytano. Sedimentos con importantes UCMs tienen valores de relaciones entre el C_{18} y su homólogo isoprenoide, Phytano, mucho más bajas y próximas a la unidad que el resto de los puntos. Así, de forma comparativa los puntos 1 o 0 varían entre 1.00 y 1.60, frente a máximos de 3.00 y 2.55 de sedimentos con bajas UCMs. Este hecho, indica la existencia de un aporte de origen antropogénico (petrogénico) relacionado con la presencia de Phytano.

4.– Las relaciones HCs/No Resueltos (UCM) adquieren, en general los valores más bajos en los puntos de mayor UCM, llegando a alcanzar niveles (0.02,0.03) que pronostican que más del 95% de los hidrocarburos detectados no son resueltos cromatográficamente.

5.– Los puntos 1 y 0, cercanos a la desembocadura del río Oria, presentan los mayores niveles en los parámetros indicadores de aporte petrogénico. Este efecto disminuye a medidas que nos alejamos de la boca del futuro emisario hacia la zona de la playa.

En la Figura se presentan los niveles de Hidrocarburos Poliaromáticos determinados en los sedimentos. Las fuentes de estos hidrocarburos en el medio ambiente se pueden englobar de forma general en tres (Phral F.G. and Carpenter R., 1984):

– la presencia de PAHs naturales es relativamente escasa, teniendo su origen en una temprena diagénesis de la materia orgánica y en reacciones biosintéticas realizadas por organismos vivos sobre compuestos ya depositados: precursores biológicos (plantas, terpenos etc.) (Mille G. et al 1980). Este es el caso del Perileno y Reteno

Tabla 4: Hidrocarburos poliaromáticos en sedimentos de la bahía de Zarautz.

Puntos	Fecha	Total PAHs (*)	Total Pirol. (*)	%Pirol. PAHs	%perileno Pirol.	MP/P
1	jul. 88	583	262	45	12	3.9
	oct. 88	2588	1022	39	3	4.0
	dic. 88	1330	368	28	4	4.3
0	jul. 88	826	327	40	13	5.0
	oct. 88	2099	884	42	4	2.5
5	jul. 88	112	61	55	11	1.7
	oct. 88	569	273	48	4	2.2
	dic. 88	191	88	46	3	2.1
8	jul. 88	1710	613	36	11	3.0
	oct. 88	390	204	52	4	0.9
	feb. 89	1081	517	48	3	2.6
14	jul. 88	501	214	43	9	2.8
	dic. 88	368	163	44	3	1.8
	feb. 89	607	305	50	3	1.6
Orio P.	dic. 88	203	109	54	3	2.0
	feb. 89	549	269	49	3	2.5
Orio R.	dic. 88	240	140	58	3	2.4
	feb. 89	683	286	42	8	2.5

(*) ng/g. peso seco

considerado, este último, como un compuesto derivado del componente principal de la resina de pino (Hites R.A., 1980).

— Los procesos de combustión, natural (incendio de bosques etc.) y antropogénico (fósiles: carbón fuel-oil etc.) presentan una mezcla mayoritaria de PAHs caracterizada por una serie de homólogos no alquilados (Hites R.A. et al 1980).

— Deposición directa de petróleo, operaciones de carga y descarga de tanques, vertidos de refinerías a efluentes etc. En este caso los PAHs presentan una mezcla compleja de compuestos con predominio de productos alquilados. El fenantreno (P) y los metil fenantrenos, C₁, C₂, C₃ etc. (MP) son compuestos característicos tanto de la combustión como del aporte petrogénico. Las mezclas alquídicas del petróleo y sus derivados tienen relaciones MP/P de 2 a 6, mientras que cuando existe una fuente pirolítica la relación es próxima a la unidad oscilando entre 0.5 y 1.0.

Dentro de los resultados obtenidos con respecto a los PAHs analizados en los sedimentos se puede indicar las siguientes características:

1.— En todas las muestras a estudio se detectó UCM. Los valores más elevados corresponden a los puntos 1 y 0, y al igual que en la fracción I^a al punto 8 del muestreo de julio.

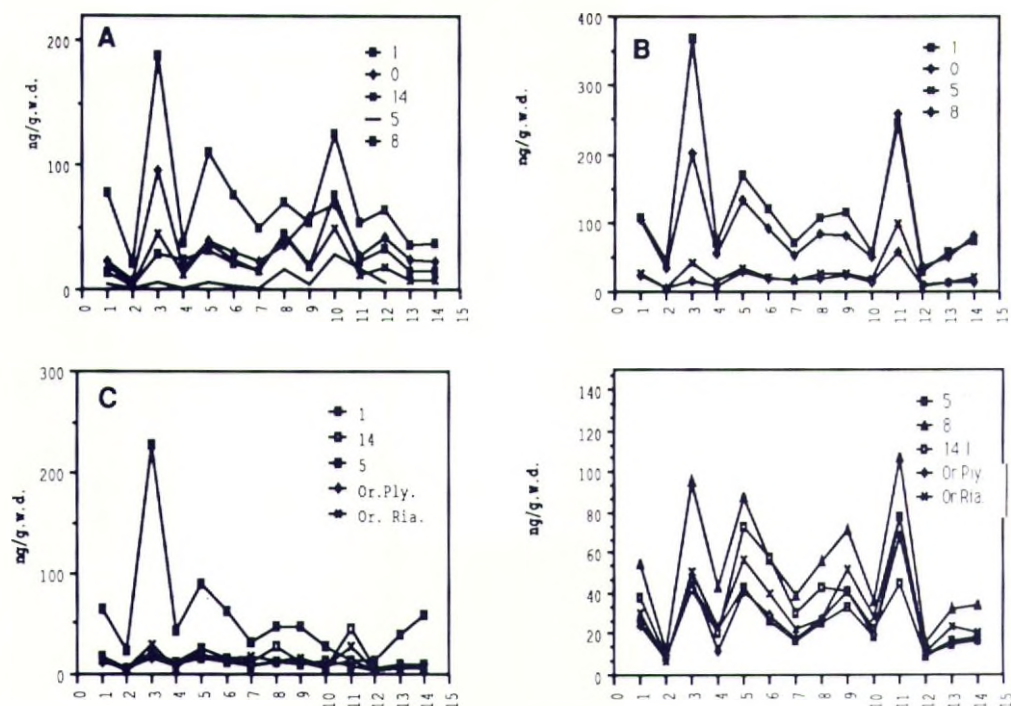


Fig. 4: Concentración de hidrocarburos poliaromáticos en sedimentos de la bahía de Zarautz. A. Julio 88, B. Octubre 88, C. Diciembre 88, D. Febrero 89.

- | | | |
|-------------------|------------------------|-----------------------------|
| 1: Fenantreno | 6: Pireno | 11: Benzo(a)pireno |
| 2: Antraceno | 7: Benzo(a)antraceno | 12: Perileno |
| 3: C1 Fenantrenos | 8: Criseno | 13: Indeno (1,2,3-cd)pireno |
| 4: C2 Fenantrenos | 9: Benzo(x)fluoranteno | 14: Benzo(ghi)perileno |
| 5: Fluoranteno | 10: Benzo(e)pireno | |

2.- Todos los PAHs identificados y cuantificados (Tabla 4) han sido observados en todas las muestras encontrándose:

– Presencia de Perileno en porcentaje de, aproximadamente, un 4% respecto al resto de los PAHs, excepto en el mes de julio donde alcanza niveles de un 11% a un 13%.

– Predominio de PAHs de origen pirolítico. Su contribución al total de PAHs varía según los puntos del 38% al 58%.

– Un aporte petrogénico a tenor de las concentraciones de los metilfenantrenos (C1 y C2 fenantrenos) frente a su homólogo (fenantreno). En casi todas las muestras las relaciones MP/P son superiores a la unidad, llegando a niveles más altos en los sedimentos con UCM mayor (a la que se le ha adjudicado un origen petrogénico). El punto 0 tiene una relación máxima de 5.0 y el punto 1 de 4.3. En el resto de los puntos la relación oscila entre 2.8 y 0.9, excepto en el punto 8 con 3.0.

3- Al igual que en los hidrocarburos de la fracción I y los 1 y 0 son los que registran más claramente el aporte petrogénico. Esta influencia disminuye al acercarnos a la zona de la playa.

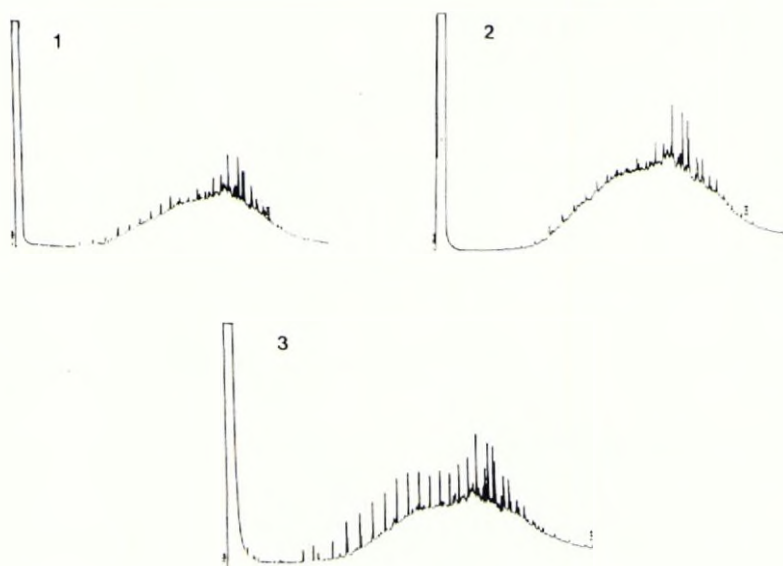


Figura 5.- Representaciones cromatográficas de Hidrocarburos Saturados. 1. Punto 1 Emisario de Zarautz (36 m), 2. Estuario exterior del río Oria (50 m), 3. Punto 5 Emisario de Zarautz (8m).

CONCLUSIONES.

El estudio de las características de los hidrocarburos revela la existencia, de:

- Un aporte terrestre proporcionado por las plantas superiores.
- Una fuente antropogénica: petrogénica y pirolítica, confirmada por gran parte de los parámetros analizados.

La semejanza de los perfiles cromatográficos de los sedimentos del estuario exterior del río Oria con los que se presentan (Figura 5) confirman la suposición de que el río Oria es el más importante foco de contaminación del área. El estudio de la distribución de los niveles de metal corrobora la importancia de los aportes del río Oria.

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado por el Dpto. de Obras Públicas y Urbanismo de la Excma. Diputación Foral de Guipúzcoa.

REFERENCIAS.

- BROOKS J.D., GOULD K. and SMITH J. W. *Nature* 22,19 (1969).
- DIDYK B.M., SIMONEIT B.R.T. BRASELL J.C. and EGLINTONG G., *Nature* 22,1 (1978).
- HITES R.A. *Geochimica et Cosmichimica Acta* 44,873-878 (1980).
- MATSUMOTO G. *Water Research* 16, 1521-1527 (1982).
- MILLE G., JIAN C.Y., and DOU H.J.M. *Int. J. Env. Anal. Chem.* 11,295-304 (1982).

REOLOGIA DE FORMULACIONES DETERGENTES: ¿TRIPOLIFOSFATOS O ZEOLITAS?

A. F. Guerrero; J. M. Rodríguez; C. Gallegos y V. Flores.
Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Sevilla.

RESUMEN.

Uno de los compuestos alternativos al uso del TPP en formulaciones detergentes son las zeolitas. Frente a la ventaja que representa su uso, lagos y embalses e incluso, en costas marinas, presentan los inconvenientes de su inoperancia frente a los iones Mg^{+2} y la necesidad de que los iones a intercambiar han de estar en disolución.

La presencia de TPP o zeolita en detergentes puede producir ciertos problemas ingenieriles; por lo cual se estudia el comportamiento reológico de «slurries» en los que el TPP se ha sustituido total o parcialmente por zeolita y citrato sódico.

SUMMARY.

Among the alternative compounds to TPP in detergent formulations, the most widely used are zeolites. With their use, it is possible to avoid the eutrophication of lakes, rivers and bodies of water. However, the drawback of zeolite is its incapacity to control magnesium hardness. Another requirement for zeolite to perform the ionic-exchange during the washing process is that alkaline ions must previously be in the solution.

The presence of TPP or zeolite in detergents usually provokes certain engineering problems. Hence, a rheological study of slurries in which TPP has been partially or completely replaced by zeolite and sodium citrate, has been carried out.

1. INTRODUCCION.

Un detergente está constituido por un conjunto de sustancias de propiedades físico-químicas diversas, de entre las que hay que destacar los tensioactivos y los

coadyuvantes, que en lo referente a la acción detergente añaden sus propiedades particulares a las de los primeros.

Las funciones de los coadyuvantes pueden sintetizarse de la forma siguiente: facilitar la preparación del detergente para su manipulación y envasado, abaratar el producto final y mejorarla acción de lavado eliminando los cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} .

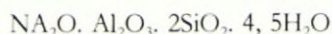
Los problemas y ventajas derivados del uso del TPP fueron estudiados en una comunicación en el Seminario del pasado año,¹ así como su sustitución parcial o total por ácidos policarboxílicos o sus sales sódicas, por AEDT o por NTA.

Interesa no obstante destacar que el principal problema que afecta en la actualidad a las formulaciones detergentes es el de la eutrofización derivado del contenido en fósforo.

Unos compuestos a tener presente, dado que pueden reunir las propiedades necesarias, son las zeolitas.

La zeolita tipo A (ZANa) es en estos momentos el sustituto más importante del TPP. A título de ejemplo, baste decir que en Japón más del 90% de los detergentes se formulan utilizando únicamente zeolita A como coadyuvante.

Desde el punto de vista químico, la zeolita A es un aluminosilicato sódico con una estructura cristalina porosa.



La presencia de átomos de aluminio en el entramado conduce a la existencia de cargas negativas, de las que una por cada átomo de aluminio son neutralizadas por iones Na^+ que pueden intercambiarse por cationes polivalentes.

Los problemas derivados del uso de zeolita A corresponden a su escasa capacidad de intercambio para el Mg^{2+} ya que los iones a intercambiar han de estar en disolución y no adheridos a superficies sólidas; por ello, se hace necesaria la presencia de un «co-builder» o compuesto capaz de actuar como complejante de iones para pasarlos a la disolución (TPP, citrato,...). Otros inconvenientes se derivan de su insolubilidad en agua, por lo que no es utilizada en detergentes líquidos, no presentar poder de dispersión y no ejercer efecto tampón (2,3).

En relación con el impacto ambiental derivado del uso de zeolita debe hacerse constancia de que no produce removilización de metales pesados sedimentados; no ejerce influencia negativa en plantas depuradoras y resultan toxicológicamente inocuas.

La sustitución de TPP por zeolita A puede plantear problemas de tipo cinético en la preparación del «slurry» y de comportamiento reológico del mismo. Por ello, se ha abordado el estudio de ambos problemas, aunque en esta comunicación se darán resultados relacionados con el comportamiento reológico. Teniendo en cuenta que, por la necesidad de tener presente en la formulación un compuesto que haga las funciones de «co-builder», el TPP en la formulación se irá sustituyendo total o parcialmente por zeolita A y por citrato sódico (CTNa).

2. PARTE EXPERIMENTAL.

Las experiencias se han realizado en un plastógrafo Brabender y los datos obtenidos se han transformado en unidades reológicas por aplicación de un método ya publicado(4). Los resultados se han obtenido tras la adición del coadyuvante a una formulación base, similar a las utilizadas industrialmente, cuya composición fue dada en anteriores comunicaciones (1, 5, 6).

Se ha estudiado la respuesta de esta formulación a los cambios totales o parciales del TPP por zeolita A(5) y por la mezcla de citrato sódico con zeolita A(6). De esta manera, el 30% de TPP se ha sustituido de forma sistemática por los otros dos coadyuvantes, estudiándose las siguientes relaciones (TPP/CTNa/ZANa):

30/0/0; 27,5/0/2,5; 22,5/0/7,5; 15/0/15; 0/0/30; 15/10/5; 15/5/10; 10/15/5; 10/10/10; 10/5/15; 5/15/10; 5/10/15; 0/15/15.

Para los estudios reológicos correspondientes se han usado los componentes de la formulación base en proporciones del 80%, 75% y 70%, en peso, siendo el resto, agua. Las medidas se han realizado a distintas temperaturas comprendidas entre 45 y 70°C.

3. RESULTADOS Y DISCUSION.

3.1. Caracterización reológica de los sistemas.

Las pastas estudiadas preselo de Casson: $\sqrt{r} = \sqrt{r_0} + \sqrt{\mu c \dot{\lambda}}$ [1]

* Modelo de Herschel - Bulkley: $r = r_0 + K \dot{\lambda}^n$ [2]

3.2. Influencia de la temperatura.

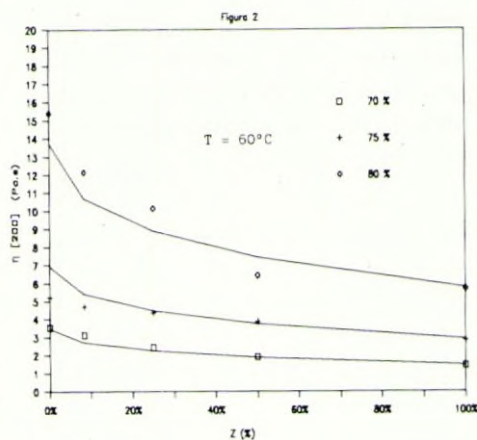
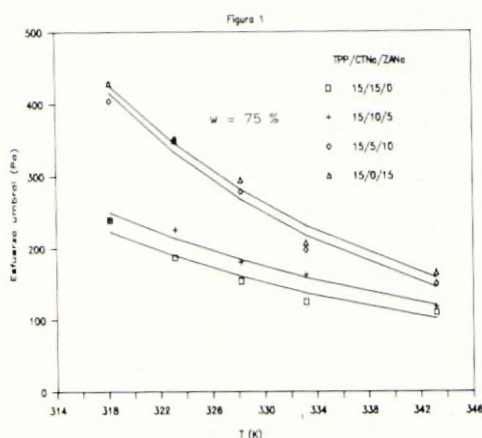
De los resultados obtenidos puede deducirse que una elevación de la temperatura provoca una disminución significativa del esfuerzo umbral, (r_0), y de la viscosidad aparente, $\eta[\dot{\lambda}]$, como puede observarse en la Figura 1. Dichas dependencias pueden cuantificarse por expresiones similares a la de Arrhenius.

El índice de flujo del modelo de Herschel-Bulkley, (n), presenta, en general, valores más elevados a las temperaturas superiores.

Dichas variaciones indican que el incremento de temperatura provoca una pérdida de las características sólidas del sistema.

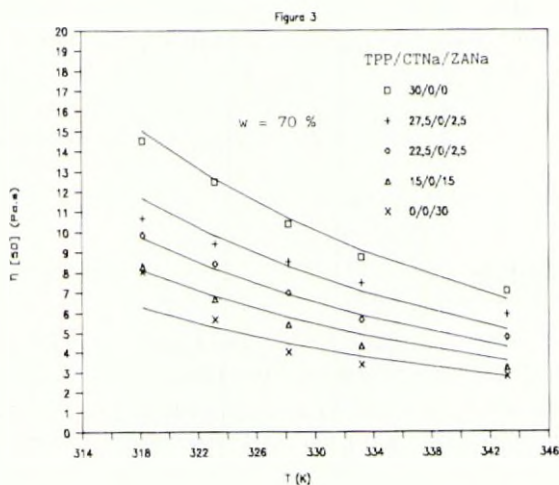
3.3. Influencia de la concentración de sustancias no acuosas.

Un aumento del porcentaje de sustancia no acuosas hasta el 80% produce un descenso significativo en el índice de flujo ($p < 0,001$). Por el contrario, el esfuerzo umbral y la viscosidad aparente (Figura 2) aumentan a medida que la cantidad de agua presente en el sistema disminuye, puesto que, en definitiva, lo que se produce es un aumento de las características sólidas de la formulación.



3.4. Influencia de la sustitución de TPP por zeolita.

En la Figura 3 se presentan los valores de la viscosidad aparente a 50 s^{-1} en función de la temperatura y de la relación TPP/ZANa. Puede observarse que el descenso de dicha relación provoca un descenso significativo de viscosidad aparente, que resulta más importante a las temperaturas inferiores.



El efecto que provoca dicha relación sobre los valores del esfuerzo umbral es análogo. Ambos parámetros reológicos pueden cuantificarse mediante expresiones empíricas que engloban los efectos de la temperatura y la relación TPP/ZANa:

$$\tau_0 = \alpha_0 \exp(b/T - p \sqrt{Z}) \quad [3]$$

$$\eta[\lambda] = a \exp(E/RT - p \sqrt{Z}) \quad [4]$$

donde Z es la fracción de ZANa en la mezcla de coadyuvantes y p es una constante adimensional que representa la contribución de la sustitución de TPP por zeolita al descenso del esfuerzo umbral o de viscosidad aparente y, al igual que la energía de activación, disminuye con el aumento de la velocidad de cizalla.

De igual modo, el descenso de consistencia que provoca la sustitución de TPP puede cuantificarse conjuntamente con el incremento que produce la concentración de sustancias no acuosas sobre el esfuerzo umbral y la viscosidad aparente:

$$r_0 = \beta_0 \exp(ow/(85-w) - p \sqrt{Z}) \quad [5]$$

$$n[\lambda] = \beta \exp(ow/85-w) - p \sqrt{z} \quad [6]$$

De esta expresión puede deducirse que la influencia de la concentración w es superior a la debida al contenido relativo de ambos coadyuvantes, efecto que puede comprobarse en la Figura 2.

3.5. Influencia de la sustitución de TPP por zeolita A y citrato sódico.

La sustitución de TPP por citrato sódico provoca un efecto de fluidificación del sistema similar al de la zeolita pero de mayor magnitud(7).

Al analizar los sistemas que contienen mezclas de los tres coadyuvantes, como es el caso de las formulaciones que se presentan en la Figura 1, puede afirmarse que la sustitución de TPP por CTNa/ZANa ejerce una influencia significativa sobre los parámetros reológicos de los modelos de Casson y Herschel-Bulkley. Puede, además, observarse que el esfuerzo umbral de la pasta y la viscosidad aparente disminuyen cuando en la formulación se sustituye el TPP por cualquiera de los otros coadyuvantes utilizados.

4. CONSIDERACIONES.

La reducción de la consistencia de la pasta observada, en general, cuando el tripolifosfato pentasódico se sustituye parcial o totalmente por cualquiera de los coadyuvantes estudiados, puede atribuirse a una disminución de la concentración de sólidos en el sistema. En efecto, tras la adición del TPP a la formulación se produce la hidratación del producto para formar el hexahidrato, lo cual provoca una sustracción de agua del sistema a razón de seis moléculas de agua por cada molécula de TPP añadido (4, 7).

Si el sustituyente es citrato la disminución de partículas sólidas es mayor, ya que es más soluble en el medio que el hexidrato o la zeolita. Además, este último coadyuvante puede originar también una eliminación de agua del sistema por incorporación en el interior de su entramado, en forma de agua zeolítica pero siempre en menor proporción que el TPP.

Si se admite la discusión precedente, pueden justificarse los resultados obtenidos para las formulaciones estudiadas, en las que la consistencia reológica disminuye según la siguiente secuencia:

$$\text{TPP} > \text{ZANa} > \text{CTNa}$$

5. AGRADECIMIENTO.

Los autores quieren hacer constar su agradecimiento a la C. A. I. C. Y. T. por la subvención de esta investigación (Proyecto PA85-0291).

BIBLIOGRAFIA.

- (1) FLORES, V.; COHEN, L. (1989). Alternativas al uso del Tripolifosfato en formulaciones detergentes. IV Seminario de Química Marina.
- (2) BRECK, D. (1974). Zeolite Molecular Sieves. Wiley, New York.
- (3) SCHWUGER, M. J.; SMULDERS, E. J. (1987). Inorganic Builders. En: Detergency: Theory and Technology, (Ed. W.G. Cutler y E. Kissa), pp 371-439. Marcel Dekker, New York.
- (4) GUERRERO, A. F.; GALLEGOS, C.; RODRIGUEZ, J. M.; FLORES, V. (1989). Método para la obtención de datos reológicos absolutos en un reómetro de par de torsión. *Afinidad*, **419**, 29-35.
- (5) GUERRERO, A. F.; RODRIGUEZ, J. M. GALLEGOS, C.; FLORES, V. (1988). Características Reológicas de pastas de detergentes que contienen Tripolifosfato Pentasódico y Zeolita. *Jorn. Com. Esp. Deterg.*, 19, 387-401.
- (6) GUERRERO, A. F.; RODRIGUEZ, J. M.; GALLEGOS, C.; FLORES, V. (1989). Características Reológicas de pastas de detergentes que contienen Tripolifosfato Pentasódico, Zeolita y Citrato sódicos. *Jorn. Com. Esp. Deterg.*, 20, 271-285.
- (7) GUERRERO, A. F. (1988). Caracterización Reológica en estado estacionario de pastas para detergentes que contienen tripolifosfato pentasódico. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION Y DE LA AIREACION EN LA DEGRADACION DE TENSIOACTIVOS

Sales, D.; Quiroga, J. M.

Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ciencias de Cádiz.

RESUMEN.

En el presente trabajo se estudia la influencia que distintas concentraciones de dos tensioactivos representativos de la familia de los aniónicos (DHS y DBS), bajo dos modalidades distintas (con aireación forzada y sin aireación forzada), tienen en el proceso de degradación de este tipo de sustancia en aguas de la Bahía de Cádiz. Se encuentra que el proceso de biodegradación de los tensioactivos estudiados no presenta diferencias significativas en los 21 días que dura el ensayo, según se realice con aireación forzada o sin ella e independientemente de las concentraciones de partida. No obstante dependiendo de estas concentraciones y de la aireación o no del proceso, esta degradación se llevará a cabo más o menos rápidamente.

SUMMARY.

This paper studies the biodegradation of two surfactants (DHS and DBS) in sea-water from the Bay of Cádiz. Different initial concentrations of surfactants are tested, and the biodegradation assays have been performed with and without aeration. The biodegradation of the two surfactants reached the same level at the end of every experiment. However, the rate of degradation was greater for aeration and lesser initial concentration surfactant assays.

1.- INTRODUCCION.

Los efectos nocivos de los contaminantes se apreciaron en un principio en los cauces continentales de las aguas, por ser éstos los receptores inmediatos de los vertidos residuales. Sin embargo, desde hace algún tiempo, debido por un lado al aumento

de la población y del nivel de vida de ésta, así como a la gran expansión industrial, se ha superado ampliamente el poder de dilución y autodepuración de las aguas continentales, por lo que los residuos y sustancias de desecho han comenzado a aparecer en los Océanos.

Sin embargo, los estudios de contaminación en el agua de mar han sido escasos, comenzándose la comunidad científica a preocuparse por el tema en los últimos años. Ello ha estado motivado fundamentalmente por el elevado poder de dilución y autodepuración que tradicionalmente se le ha atribuido al mar y a la menor espectacularidad de sus efectos, en comparación con otros ecosistemas acuáticos continentales.

Por su situación en la línea de costa, las bahías estuarios y demás ecosistemas litorales, constituyen zonas de una elevada productividad, estando implicadas en el desarrollo de las formas larvales de un gran número de peces, crustáceos y moluscos, de interés para la pesquería y la acuicultura marina. Se caracterizan generalmente por tener una reducida tasa de renovación de sus aguas, lo que hace que las condiciones ambientales de estos ecosistemas estén muy afectadas por los distintos tipos de vertidos que en ellos se producen sin ningún tipo de tratamiento depurativo previo.

Una parte de esta contaminación se debe al consumo de detergentes, cuyo uso está cada vez más generalizado debido a la enorme expansión experimentada por estos productos en los últimos años (Arpino, 1985). De los distintos componentes de un detergente, los tensioactivos constituyen su parte más importante (García, 1986) y son los responsables de un gran número de sus propiedades, las cuales afectan tanto a la calidad del agua de mar como a las especies que allí habitan.

En el presente trabajo se trata de poner de manifiesto la influencia que distintas concentraciones de dos tensioactivos, y bajo dos condiciones ambientales distintas tienen en el proceso de degradación de dichos productos en agua de mar.

2.- PARTE EXPERIMENTAL.

Los ensayos de degradación se han realizado siguiendo una técnica similar al test de «agua de río» (Swisher, 1970). Todos los ensayos se han llevado a cabo en matraces de 5 l de capacidad a los que se le añadieron 2.5 l de agua de mar, al objeto de dejar un volumen de aire suficiente como para poder satisfacer los requerimientos de oxígeno, y la cantidad adecuada de tensioactivo para verificar el ensayo en las condiciones establecidas. Esta cantidad procedía de una disolución madre de 1 gr/l previamente preparada. Los matraces permanecieron siempre tapados a excepción del momento de toma de muestra, lo que ocurría a intervalos de tiempo previamente fijados.

Cada ensayo ha sido realizado en dos modalidades: **con aireación forzada** y **sin aireación forzada** para lo cual se hacía pasar al matraz aire, previamente filtrado y purificado a la velocidad de 1 l/min.

Los ensayos fueron realizados a la temperatura de 25°C, utilizando para la realización de los mismos agua de la Bahía de Cádiz. La situación geográfica del punto de toma de muestra se indica en la Figura 1 (Muelle Pesquero).

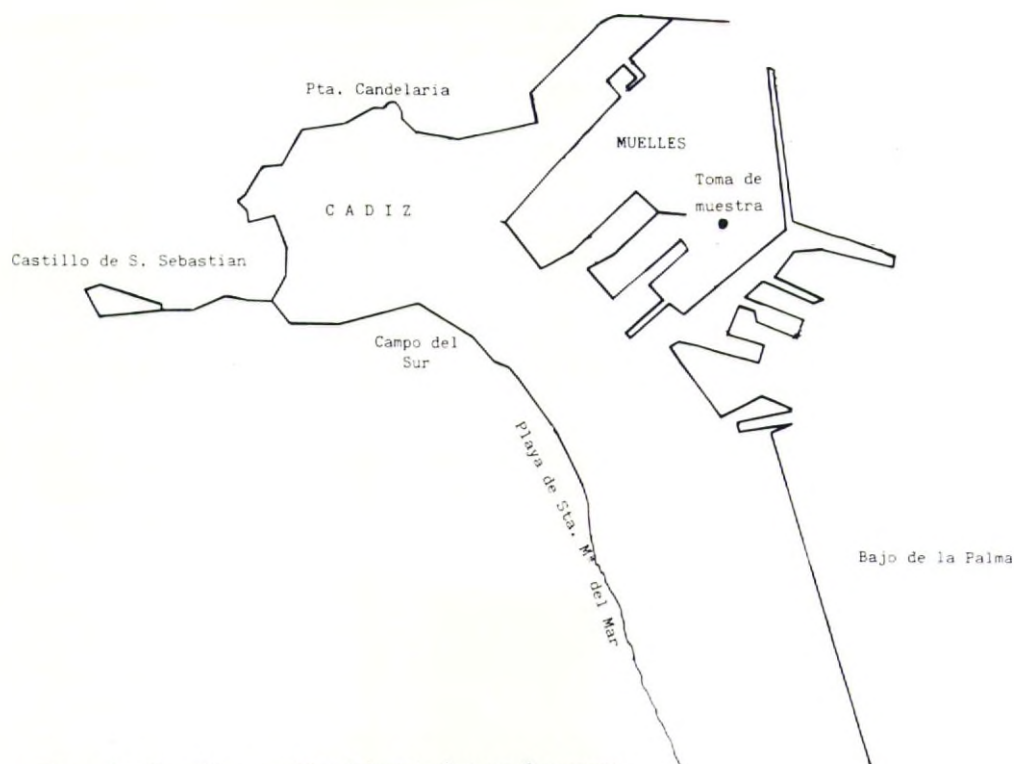


Figura 1.- Situación geográfica del punto de toma de muestra.

Las aguas fueron analizadas inmediatamente después de su llegada al laboratorio, lo cual ocurría en un intervalo de tiempo inferior a dos horas desde el momento de su recolección en el mar, y los parámetros determinados fueron los siguientes: pH, Salinidad, Oxígeno Disuelto (-Standar Methaods, 1980), Materia Tensioactiva Aniónica (Abbot, 1962) y Número de colonias/ml de muestra (Standar Methods, 1980). Como medio de cultivo se utilizó un «Nutrient-Agar» de la marca DIFCO.

Una vez iniciado el ensayo, las muestras fueron tomadas de los tanques, previa agitación de éstos, los días 0,1,2,3,4,7,9,11,14 y 21 determinándoseles el contenido en materia tensioactiva aniónica. El pH y el oxígeno disuelto solo fueron analizados los días 0,7,14, y 21, mientras que el recuento de microorganismos se efectuó solo durante los días 0,3,7 y 12 que duró el ensayo.

Los tensioactivos elegidos para el estudio, lo han sido de forma que fueran representativos de los distintos tipos de tensioactivos aniónicos. El **dodecil-sulfato sódico** es un tensioactivo característico de los alquil-sulfatos. De las especificaciones dadas por la casa Merck para este producto, se sabe que presenta una riqueza superior al 99,9% en M.A.; por lo que se puede usar como referencia. El segundo tensioactivo elegido es el **dodecil-benceno sulfonato sódico** que pertenece a la familia de los alquil-benceno sulfonatos y es el más utilizado en la fabricación de detergentes domésticos. El dodecil-benceno sulfonato sódico utilizado contiene un 90% en M.A.

Para el dodecil-sulfato sódico, dada su buena solubilidad en agua de mar, se prepararon soluciones de 20, 50, 75 y 100 mg/l. Para el dodecil-benceno sulfonato, su solubilidad se afecta de forma muy significativa por la salinidad, de forma que en agua de mar del 35‰ de salinidad y a temperaturas del orden de 20–25°C, el DBS-90 solo puede alcanzar concentraciones del orden de 15 mg/l como máximo. Por esta razón, se prepararon disoluciones de 4, 7 y 10 mg/l en agua de mar.

3.- RESULTADOS Y DISCUSION.

3.1. Ensayos con dodecil-sulfato sódico.

3.1.1. Influencia de las distintas concentraciones iniciales.

En la Figura 2 se representan los resultados obtenidos para su degradación en los 21 días que duró el ensayo. Puede observarse en todos los casos que, cualquiera que sea la concentración inicial de tensioactivo y las condiciones del proceso (con o

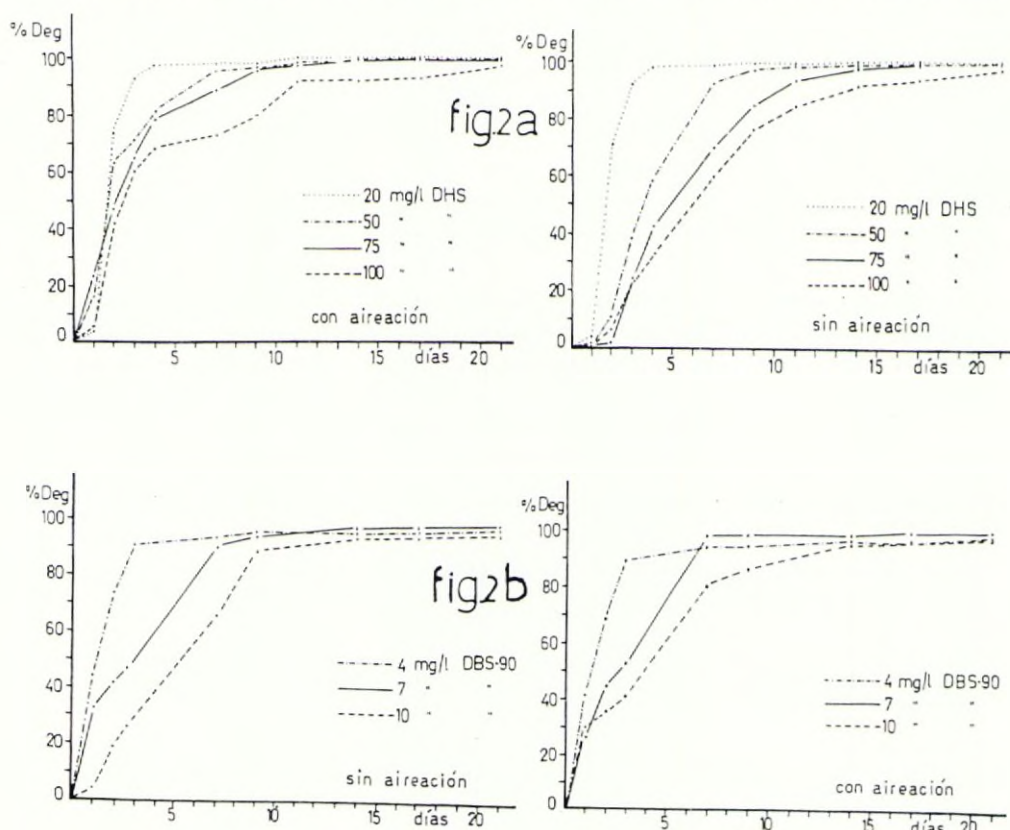


Figura 2.- Evolución temporal del porcentaje de degradación para el DHS y el DBS en las distintas condiciones ensayadas.

sin aireación forzada), se supera el porcentaje de degradación establecido por la legislación española (90%). Sin embargo, conviene reflejar algunas características que se producen durante el proceso:

- a. Para los ensayos con 20 y 50 mg/l, a los 7 días de iniciado el proceso se alcanza ya el 90% de degradación, independientemente de que exista o no aireación forzada. Para los ensayos con 75 y 100 mg/l el 90% de degradación se alcanza en un tiempo mayor (en los ensayos con aireación al 9º y 11º día respectivamente y en los ensayos sin aireación el 11º y 14º respectivamente).
- b. Otra característica importante que se observa es que, al iniciarse el proceso, existe una mayor velocidad de degradación en los ensayos con aireación forzada, en los cuales el período de adaptación de las bacterias al tensioactivo es prácticamente inexistente. Esto induce a pensar que el proceso de degradación del tensioactivo en agua de mar es un proceso fundamentalmente aeróbico.

3.1.2. Evolución del oxígeno disuelto.

Los resultados obtenidos para este parámetro se indican en la tabla 1. En ella se observa que para los ensayos con aireación forzada, cualquiera que sea la concentración inicial de dodecil-sulfato, se aprecia como el contenido en oxígeno experimenta un ligero descenso con el tiempo.

Sin embargo, este descenso es muy pronunciado para los ensayos sin aireación forzada, sobre todo en los 7 primeros días de ensayo, hecho indicativo de un fuerte consumo inicial, pues en todos los casos se ha superado el 60% de degradación. Este descenso es más pronunciado para el ensayo de concentración 20 mg/l debido a que en él se alcanzaba el 90% de degradación en los 7 primeros días. Posteriormente se observa un ligero aumento en el valor del oxígeno disuelto, debido probablemente a que la velocidad de consumo para la degradación del tensioactivo aún presente, es menor que la velocidad a la que se disuelve en el sistema el oxígeno que se mantiene en el volumen libre de disolución.

Tabla I.- Evolución temporal de la concentración del oxígeno disuelto para los ensayos de degradación del DHS (C.A.: con aireación; S.A.: sin aireación).

DIAS	Concentración (mg L ⁻¹)							
	20		50		75		100	
	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.
0	8.02	8.02	8.02	8.02	8.02	8.02	8.02	8.02
7	6.93	4.01	7.10	5.01	6.60	4.59	6.96	5.01
14	6.43	6.60	6.43	3.92	6.93	1.84	7.01	2.92
21	6.87	6.76	5.37	3.59	6.55	2.84	5.59	3.97

A los 21 días de iniciado el proceso, prácticamente en todos los casos, el oxígeno disuelto en los ensayos con aireación forzada es mayor que el existente en los ensayos sin aireación forzada.

3.1.3. Evolución del pH.

En los ensayos con aireación forzada se observa un ligerísimo aumento en el valor del pH desde que se inicia el proceso, hasta el final del ensayo.

Para los ensayos sin aireación forzada se aprecia un ligero descenso del pH a los 7 días lo que se puede relacionar, en cierta manera, con los valores de pH que se obtienen en los procesos de degradación anaerobia en los cuales se produce una primera etapa denominada fermentación ácida que provoca un ligero descenso de este parámetro (Sales y col. 1989). Pasada esta primera etapa, se vuelve a observar un ligero aumento del pH, pero nunca llega a alcanzar el valor que presenta en los ensayos con aireación forzada.

3.1.4. Evolución del número de colonias.

La figura 3 representa la evolución del número inicial de colonias (30.000 col/ml) durante el ensayo. Esta evolución es la típica de todo proceso de degradación

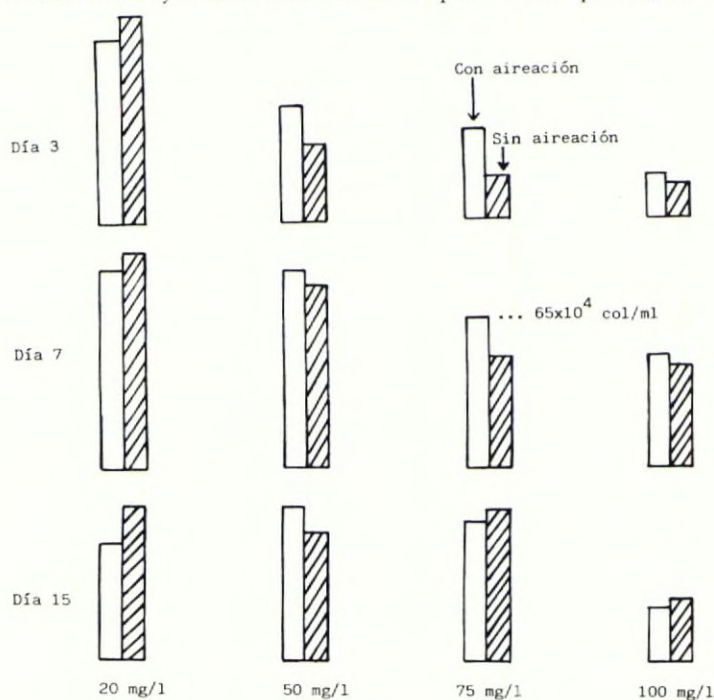


Figura 3.- Evolución con el tiempo del número de colonias durante los ensayos con DHS.



Figura 4.- Curva de crecimiento de un cultivo bacteriano en un sistema en discontinuo.

en discontinuo (Figura 4) y en ella podemos distinguir tres etapas (Bayley y Ollis, 1980):

- Una primera etapa de adaptación de la flora bacteriana al tensioactivo en la que éste apenas se degrada y cuya duración puede ser de horas o de días. En esta etapa, el número de microorganismos prácticamente no varía, pudiendo incluso descender. Esta etapa como vemos no existe para los ensayos de concentración 20 mg/l de tensioactivo debido a la rapidez con que se produce la degradación.
- Una segunda etapa de crecimiento exponencial del número de microorganismos una vez que estos se han adaptado al medio, durante la cual se produce de forma efectiva la degradación.
- En la tercera etapa el número de microorganismos después de un período de estabilización, comienza a descender ante la desaparición del medio del sustrato alimenticio (en nuestro caso, el tensioactivo).

Tabla II.- Evolución temporal del pH para los ensayos de degradación del DHS (C.A.: con aireación; S.A.: sin aireación).

DIAS	Concentración (mg L ⁻¹)							
	20		50		75		100	
	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.
0	7.70	7.70	7.70	7.70	7.70	7.70	7.70	7.70
7	7.90	7.55	7.95	7.50	7.95	7.50	7.80	7.55
14	8.05	7.70	8.15	7.60	8.00	7.50	7.90	7.65
21	8.10	7.95	8.20	7.80	8.15	7.60	7.95	7.70

Puede observarse también que el número de colonias que se desarrollan en los ensayos con aireación es mayor que el que lo hace en los ensayos sin aireación (lo que vuelve a probar que el proceso de degradación es fundamentalmente aeróbico), excepto para los ensayos con 20 mg/l. Esto puede ser debido a que al ser una concentración pequeña, la influencia de la aireación no es fundamental, tal y como quedó reflejado en la evolución del porcentaje de degradación.

3.2. Ensayos con dodecil-benceno sulfonato.

3.2.1. Influencia de la concentración inicial.

La figura 2 muestra la evolución del porcentaje de degradación con el tiempo para el DBS. En todos los casos, puede observarse, que cualquiera que sea la concentración inicial de dodecil-benceno y se proceda con o sin aireación, se alcanza un alto porcentaje de degradación a los 21 días, superior siempre al 95%. También se observa que cuanto menor sea la concentración, más fácilmente se degrada el tensioactivo y que para concentraciones menores (4 mg/l) no existe prácticamente influencia de la aireación.

Si comparamos estos resultados con los de la Figura 2 puede observarse que este tensioactivo tarda más en degradarse que el DHS, con el consiguiente peligro para la flora y la fauna del ecosistema en que se encuentren. la razón de esta diferencia de degradabilidad puede atribuirse a que el DHS posee un enlace ester que las enzimas hidrolíticas pueden romper con facilidad, anulando de esta forma la respuesta al método del Azul de Metileno. Para el caso del DBS, al poseer un enlace entre un carbono del anillo bencénico y el azufre del grupo sulfonato difícil de romper, la degradación ha de comenzar por el extremo final de la cadena y ésta tardará más.

3.2.2. Variación del oxígeno disuelto.

Los valores encontrados para el oxígeno disuelto están indicados en la Tabla 3. Se comprueba que tanto en los ensayos con y sin aireación hay al principio del proceso

Tabla III.- Evolución temporal de la concentración del oxígeno disuelto para los ensayos de degradación del DBS (C.A.: con aireación; S.A.: sin aireación).

DIAS	Concentración (mg L ⁻¹)					
	4		7		10	
	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.
0	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90
7	6.85	7.43	6.51	5.34	6.18	6.50
14	6.73	8.10	7.10	8.93	7.43	6.76
21	7.01	8.18	7.50	8.58	6.96	8.85

una disminución del oxígeno disuelto, recuperándose posteriormente aunque sin llegar a alcanzar en ningún momento el valor inicial. Sin embargo, los descensos de estos valores son menores y menos bruscos que en el caso del dodecil-sulfato lo que corrobora que el proceso de degradación sea más lento en este segundo caso.

3.2.3. Variación del pH.

Los resultados obtenidos para el pH durante los ensayos realizados aparecen recogidos en la Tabla 4. Se observa que existe un ligero aumento de este parámetro a lo largo del ensayo, pero su fluctuación no va a condicionar de ninguna manera el proceso de degradación.

Tabla IV.— Evolución temporal del pH para los ensayos de degradación del DBS (C.A.: con aireación; S.A.: sin aireación).

DIAS	Concentración (mg L ⁻¹)					
	7				10	
	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.	C.A.	S.A.
0	7.90	7.90	7.90	7.90	7.90	7.90
7	8.10	8.05	8.10	8.00	8.15	8.00
14	8.20	8.35	8.20	8.45	8.20	8.05
21	8.10	8.30	8.10	8.50	8.25	8.10

3.2.4. Evolución del número de colonias.

La evolución del número de colonias se representa en la Figura 5. Su número inicial es el mismo que en los ensayos con DHS, pero el número de colonias que se desarrollan durante el ensayo, es menor. Se aprecia aunque no de forma tan significativa, las distintas fases del desarrollo bacteriano.

4. CONCLUSIONES.

Como conclusiones del estudio realizado podemos indicar las siguientes:

1. La degradación del dodecil-sulfato sódico y del dodecil-benceno sulfonato sódico por aguas de la Bahía de Cádiz es un proceso de carácter biológico, por lo que puede calificarse como de biodegradación.

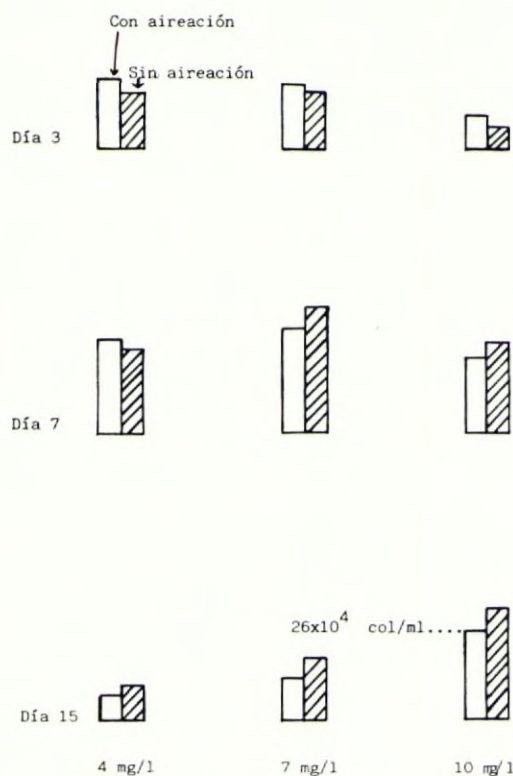


Figura 5.- Evolución con el tiempo del número de colonias durante los ensayos con DBS.

2. El dodecil-sulfato se comporta como tensioactivo «blando» (es decir fácilmente biodegradable) incluso a concentraciones superiores a las encontradas habitualmente en los vertidos de aguas residuales.
3. El proceso de biodegradación de los tensioactivos estudiados no presenta diferencias significativas en los 21 días de ensayo, según se realice con aireación forzada o sin ella e independientemente de las concentraciones de partida. No obstante, dependiendo de la concentración y de la aireación o no del proceso, esta degradación se llevará a cabo más o menos rápidamente.

5. BIBLIOGRAFIA.

- ABBOT D.C. (1962) The colorimetric determination of anionic surface-active materials in water. *Analyst* 87, 286-293.
- BAYLEY J. E., OLLIS D.F.(1980) *Biochemical Engineering Fundamental*. McGraw-Hill, New York.
- GARCIA DOMINGUEZ J. J. (1986) *Tensioactivos y detergencia*. Editorial Reverte, Madrid.
- ARPINO A. (1985) Detergent development and domestic use sin 1982 and 1983. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 62 (2), 105-112.
- SALES D., VALCARCEL M. J., ROMERO L. I., MARTINEZ E. (1989) Anaerobic Digestion Kinetics of Wine-Distilleries Wastewaters. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 45, 147-162.
- STANDAR METHODS (1980) Joint Editorial Board, Washington D. F.
- SWISHER RD (1970) *Surfactant Biodegradation*. Marcel-Dekker, New York.

Terminóse de imprimir
la presente edición
en la ciudad de Cádiz,
el día 4 de Marzo
de MCMXCII, festividad de
San Casimiro,
(Miércoles de Ceniza),
en los talleres de
Imprenta Repeto.

